

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ГЕНЕТИКИ,
БИОТЕХНОЛОГИИ И ИНЖЕНЕРИИ ИМЕНИ Н.И. ВАВИЛОВА»

На правах рукописи

Клоков Владимир Сергеевич

**ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ
ПРАГМАТИЗАЦИИ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗА У МЕЛКИХ
НЕПРОДУКТИВНЫХ ЖИВОТНЫХ**

4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и
токсикология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Научный руководитель:

кандидат ветеринарных наук,
доцент **Артемьев Д.А.**

Саратов – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

	стр.
ВВЕДЕНИЕ	3
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	10
1.1. Современное представление об иммунопатогенезе при ортопедической травме	10
1.2. Регенерация кости и стимуляция остеогенеза	15
1.3. Роль цитокинов в ремоделировании костной ткани животных	19
1.4. Роль антиоксидантной системы в метаболизме костной ткани	24
1.5. Покрытия для имплантов, используемые в ветеринарной травматологии и ортопедии	28
2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ	35
2.1. Методология, материал и методы исследования	35
2.2. Результаты исследований и их анализ	43
2.2.1. Модификация остеопластического покрытия для стимулирования образования костной ткани	43
2.2.2. Общетокические исследования модифицированного покрытия	45
2.2.3. Оценка остеорепаративного воздействия модифицированного покрытия у целевых животных компаньонов	58
2.2.3.1. Гемато-биохимические показатели крови при использовании модифицированного покрытия у целевых животных-компаньонов	61
2.2.3.2. Рентгенография костной структуры при использовании модифицированного покрытия у целевых животных-компаньонов	69
2.2.3.3. Гистологическое строение костной структуры при использовании модифицированного покрытия у целевых животных-компаньонов	78
2.2.3.4. Динамика цитокинового профиля в оценке прагматизации репаративного остеогенеза у целевых животных-компаньонов	82
2.2.3.5. Оценка уровня окислительного стресса при использовании модифицированного покрытия у целевых животных-компаньонов	86
2.2.4. Сравнительная характеристика оригинального и модифицированного покрытия наночастицами селена (nSe) для имплантатов	88
ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ	90
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	95
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	99
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	102
ПРИЛОЖЕНИЯ	128

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Процесс регуляции репаративного остеогенеза, основанный на гистофизиологических, иммуноморфологических и восстановительных механизмах, является основополагающим как в ветеринарной, так и гуманной травматологии (Н.А. Башкатова, 2000; В.В. Анников, 2006; А.В. Москалёв, 2009; И.П. Ардашев, 2011; В.И. Николаев, 2021; Ч.Э. ДеКамп, 2022).

Наличие проблем и осложнений, связанных с травматолого-ортопедическими нарушениями у животных, является, безусловно, важным вопросом, поскольку ответной реакцией макро- и микроорганизма на анатомические нарушения костной ткани сопровождается активированием каскада иммунобиохимических преобразований, обуславливающие формирование травматической болезни (В.В. Анников, 2006; Т.С. Белохвостикова, 2009; О.В. Бердюгина, 2009; В.А. Лукьяновский, 2010).

Данное обстоятельство выступает в качестве ключевого мотива для практикующих ветеринарных врачей, стремящихся к поиску и усовершенствованию новых методов лечения и профилактики заболеваний опорно-двигательного аппарата.

Одним из данных направлений является создание биокompозитных материалов и покрытий для имплантов способных оптимизировать репаративный остеогенез. Активнодействующие вещества данных разработок должны усиливать остеокондуктивные, антиоксидантные, остеоиндуктивные, регенераторные и противобактериальные свойства собственного организма (О.А. Малахов, 2002; Д.А. Марков, 2008; Р.В. Деев, 2015; А.А. Денисова, 2021).

На сегодняшний день отечественными и зарубежными учёными создано определённое количество материалов замещающих костную ткань, а также покрытий для имплантов (Д.В. Кирсанов, 2024), однако, несмотря на позитивные свойства активнодействующих веществ, имеется сегмент для их совершенствования.

Речь идёт об интеграции антиоксидантных компонентов в состав биокomпозитов и покрытий для имплантов, оказывающие противовоспалительную, цитопротективную, пролиферативную активность, что создаст благоприятные условия для репаративного остеогенеза.

Именно поэтому совершенствование остеопластических биокomпозиционных покрытий имплантов является весьма актуальным вопросом.

Степень разработанности темы

На сегодняшний день наблюдается повышение численности домашних животных, в связи с этим, случаи травматизма различной этиологии, а также нарушений анатомической целостности костей регистрируются чаще (В.В. Анников, 2006).

Современные диагностические мероприятия способны достаточно точно диагностировать уровень и степень нанесённого повреждения костной структуре (К.М. Мортелларо, 2017).

Благодаря классификации переломов АО/ASIF и AOVET установлены алгоритмы стабилизации костных нарушений у мелких непродуктивных животных (Д.А. Артемьев, С.В. Козлов, В.С. Клоков, 2022).

Зарубежными и отечественными учёными, а также практикующими специалистами разрабатываются и внедряются биокomпозиционные материалы и покрытия, направленные на оптимизацию остеогенеза (A.Track, 2015).

На сегодняшний момент есть необходимость в модификации и совершенствовании именно покрытий для имплантов, так как погружной и комбинированный остеосинтез, на сегодняшний момент, имеет ряд преимуществ, связанных с надёжной фиксацией, минимальными повреждениями кожи, сохранений функций смежных мышц и сухожильно-связочного аппарата, а также возможности создания нагрузки на оперированный сегмент (В.В. Анников, 2006).

Цель исследования

Целью данного исследования являлось клинико-экспериментальное обоснование эффективности восстановления костной ткани, с помощью

модифицированного остеопластического покрытия имплантов наночастицами селена (nSe) у мелких непродуктивных животных.

Для реализации цели был определён ряд **задач**:

1. Модифицировать оригинальное покрытие имплантов (патент № 2817049) наночастицами селена (nSe), для оптимизации процесса сращения переломов трубчатых костей у животных-компаньонов.

2. Провести доклинические исследования модифицированного покрытия имплантов наночастицами селена (nSe).

3. Оценить репаративные процессы на основе гематологического и биохимического исследования при применении модифицированного покрытия имплантов наночастицами селена (nSe) у животных-компаньонов.

4. Гистологически и рентгенологически оценить остеогенный потенциал модифицированного покрытия имплантов наночастицами селена (nSe) у животных-компаньонов.

5. Иммунологическим методом оценить остеогенный потенциал модифицированного покрытия имплантов наночастицами селена (nSe) у животных-компаньонов.

6. Оценить антиоксидантную активность на основе спектрофотометрического исследования при применении модифицированного покрытия имплантов наночастицами селена (nSe) у животных-компаньонов.

Объект исследования

Для изучения острой токсичности, местно-раздражающего и аллергизирующего действия модифицированного наночастицами селена (nSe) покрытия имплантов были задействованы клинически здоровые мыши и кролики.

Для изучения терапевтической эффективности модифицированного наночастицами селена (nSe) покрытия имплантов были задействованы целевые животные (собаки).

Предмет исследования

Предметом исследования являлось структурно-функциональное состояние макроорганизмов, изучаемое с помощью клинического, биохимического, рентгено-гистологического, а также иммунологического исследования при использовании модифицированного наночастицами селена (nSe) покрытия для имплантов.

Научная новизна

- Модификация разработанного оригинального остеопластического покрытия имплантов (патент №2817049) для ускорения сращения переломов костей мелких непродуктивных животных с помощью наночастиц селена (nSe).
- Определено отсутствие токсических свойств модифицированного остеопластического покрытия имплантов наночастицами селена (nSe) на лабораторных и целевых животных.
- Установлена терапевтическая эффективность модифицированного остеопластического покрытия имплантов наночастицами селена (nSe) у мелких непродуктивных животных.

Теоретическая и практическая значимость работы

Проведённые экспериментальные исследования расширяют существующие знания о механизмах репаративного остеогенеза за счет проведенных клинико-биохимических, рентгено-гистологических исследований, акцентируя внимание на иммунологических и морфологических аспектах, что позволяет фундаментальнее изучать процессы восстановления костной ткани.

Выявлены ключевые аспекты прагматизации репаративного остеогенеза с использованием модифицированного покрытия имплантов наночастицами селена (nSe), активизируя остеокондуктивные, антиоксидантные, остеоиндуктивные, регенераторные и противобактериальные свойства макро- и микроорганизма.

Экспериментально установлена безопасность модифицированного покрытия в лабораторных условиях и клинической практике при лечении животных с переломами трубчатых костей.

Материалы диссертационной работы включены в учебный процесс и используются при проведении лекций и лабораторно-практических занятий с обучающимися специальности «Ветеринария» на кафедре «Болезни животных и ВСЭ» ФГБОУ ВО Вавиловский университет (Приложение 5). Инновационное покрытие имплантов с наночастицами селена (nSe) внедрено в клиническую практику при оказании травматологической помощи в ведущих ветеринарных учреждениях г. Саратова (УНТЦ «Ветеринарный госпиталь», клиника «DoctorVet» и Саратовский ветеринарный исследовательский центр).

Методология и методы исследований

Методологическим подходом к изучению и решению поставленных задач явились работы С.Ю. Концевой (2004), В.В. Анникова (2006), Ф.В. Шакировой (2011), Н.В. Сахно (2012), С.В. Черниговой (2014), А.В. Красникова (2017), Е.М. Марьина (2020), Д.А. Артемьева (2024).

На доклиническом этапе для оценки фармакологических и токсикологических параметров биокомпозиционного покрытия, модифицированного наночастицами селена (nSe), исследования выполняли на лабораторных мышах и кроликах на территории вивария ИВМиФ (Вавиловский университет).

Исследования терапевтической эффективности осуществлены в ветеринарных клиниках города Саратова (Приложения 2, 3, 4).

При осуществлении научно-исследовательской работы изучили и применили методы научного поиска, анализа, сравнения, обобщения.

Благодаря современному высокотехнологическому оборудованию научного подразделения ФГБОУ ВО Вавиловский университет устанавливали иммунологические и морфологические аспекты прагматизации репаративного остеогенеза у мелких непродуктивных животных.

Данные, полученные в ходе экспериментальной и клинической части, анализировались с использованием стандартной программы Microsoft Excel 2019, а также с применением t-критерия Стьюдента для оценки надежности полученных результатов.

Положения, выносимые на защиту:

1. Доклинические исследования остеопластического биоконпозиционного покрытия имплантов с наночастицами селена (nSe).
2. Оценка иммунологических процессов при использовании остеопластического биоконпозиционного покрытия имплантов с наночастицами селена (nSe).
3. Оценка морфологических процессов при использовании остеопластического биоконпозиционного покрытия имплантов с наночастицами селена (nSe).
4. Способ прагматизации репаративного остеогенеза биоконпозиционным покрытием имплантов с наночастицами селена (nSe).

Степень достоверности и апробации результатов. Диссертационная работа базируется на существенном объеме проанализированных литературных источников, что обеспечивает теоретическую основу. Для осуществления исследований применялись высокоточные цифровые методы, реализованные в стандартизированных лабораторных условиях с использованием сертифицированного оборудования, при этом полученные результаты подверглись тщательному статистическому анализу для оценки их значимости и надежности.

Результаты диссертационной работы были представлены и обсуждены на следующих конференциях: Научно-практической конференции по итогам научно – исследовательской и производственной работы студентов за 2021 год (Саратов, 2022); Всероссийском конкурсе на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых учёных высших учебных заведений МСХ РФ (Казань, 2022); Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы ветеринарной медицины, пищевых и биотехнологий» (Саратов, 2022); Международной научно-практической конференции «От модернизации к опережающему развитию: обеспечение конкурентоспособности и научного лидерства АПК. Актуальные проблемы ветеринарной медицины» (Екатеринбург, 2022); Международной научно-практической конференции «Актуальные

проблемы ветеринарной медицины, пищевых и биотехнологий» (Саратов, 2024); XVIII международном конкурсе научно - исследовательских работ «Технологические инновации и научные открытия» (Башкортостан, 2024).

Личный вклад соискателя. Исследования были проведены в период с 2022 по 2025 годы, данные полученные в ходе исследований отображены в диссертационной работе. В ходе исследований оригинальное биокомпозиционное покрытие имплантов было модифицировано наночастицами селена (nSe) для катализации сращения нарушений анатомической целостности костной структуры животных. Изучена специфическая и терапевтическая эффективность. Автором лично выполнена фундаментальная часть экспериментальных исследований, клинической работы.

Публикации результатов исследования. Данные полученные в ходе выполнения диссертационной работы были опубликованы в 28 научных работах, в том числе 7 статей в журналах, рецензируемых перечнем ВАК РФ. Получен 1 патент РФ на изобретение. Общий объем публикаций 12,5 п.л., из которых 6,8 п.л. принадлежат лично соискателю.

Объём и структура диссертации. Диссертация изложена на 132 страницах и содержит введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, собственные исследования, заключение. Работа иллюстрирована 21 таблицей и 24 рисунками, содержит 5 приложений. Библиографический список включает 194 источников, в том числе 134 – отечественных и 60 иностранных.

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Современное представление об иммунопатогенезе при ортопедической травме

На сегодняшний день травмы костей, хрящей и мягких тканей остаются самыми распространёнными патологиями, снижающие качество жизни животных. Несмотря на бурное развитие ветеринарии медицины, такие патологии являются насущной проблемой для клиницистов. В связи с этим изучение и стабилизация механизмов регуляции, а также способов поддержания гомеостаза у животных не теряет своей актуальности (Н. Liu, 2017; Ч.Э. Де Камп, 2022).

При различных повреждениях опорно-двигательного аппарата животных, включающего кости, суставы, мышцы, связки и сухожилия, первой ступенью в стабилизации гомеостаза является активация иммунной системы, создающий воспалительный процесс. Клетки иммунной системы реагируют на травму синтезом и взаимодействием с цитокинами, хемокинами, факторами роста и молекулярными паттернами, реагирующие на повреждения (DAMPs-иммунология). При незначительной травме организма, как правило, стабилизация гомеостаза осуществляется в короткие сроки без применения медикаментозного лечения, однако, высокоэнергетические повреждения, без консервативной или оперативной помощи, способствуют развитию дегенеративно-дистрофических нарушений клеточно-тканевой структуры (У.М. Абуджазар, 2014; Е.А. Житлова, 2015; Д.А. Артемьев, 2024).

Следует отметить, что при повреждениях разных типов клеточной структуры и тканей, иммунный ответ может отличаться, за счет активации тех или иных процессов.

Так, например, группой авторов описан процесс разрушения и восстановления скелетных мышц в ответ на их повреждение (Д.А. Артемьев, 2022). Авторы описывают несколько взаимосвязанных фаз: дегенерация, некроз, ремоделирование, склерозирование или оссификацию, регенерацию.

Доказано, что ответом на травму у животных при асептическом и септическом воспалительном процессе является высвобождение

провоспалительных цитокинов в месте повреждения, индуцирующие накопление иммунокомпетентных клеток (нейтрофилы, макрофаги), очищающие поражённую область от разрушенных клеток и их структур. Речь идёт о высвобождении цитокинов и хемокинов (тромбоцитарный фактор роста (PDGF), трансформирующий фактор роста бета (TGF- β), интерлейкины IL-13, IL-4). Автор утверждает, что воспалительный процесс может, как ингибировать процессы последовательного разрушения мышечных волокон, так и запускать алгоритмы усугубляющие разрушение мышц (D.V. Ivanovic, 1998).

Доказано, что у животных, помимо сигнала экзогенного происхождения, организм способен распознавать сигнальные молекулы разрушенных или подвергшихся давлению тканей. Иммунная система может не только распознать чужеродную клетку, но и отличить повреждённую от здоровой. Сигнальные молекулярные паттерны (DAMPs), указывающие на повреждение клетки, находятся изолировано от иммунной системы, высвобождаясь на повреждение, индуцируют воспаление (Е.Ю. Коршунова, 2011).

После высвобождения в интерстициальное пространство молекулярные паттерны (DAMPs) взаимодействует с рецепторами распознавания образов (PPO), входящих в иммунокомпетентные клеточные структуры, что приводит к повышению образования провоспалительных цитокинов, активной формы кислорода (АФК), нейропептидов, простагландинов, индуцируя воспаление (Е.Ю. Коршунова, 2012).

При улавливании сигнала о повреждении клеточной структуры тканеспецифическими макрофагами высвобождаются провоспалительные цитокины (TNF, IL-1, IL-6, IL-8 и IL-12) и хемокины (CXCL1, CXCL2, CXCL5), что стимулирует приток иммунокомпетентных клеток (WBC, NEUT, MON) в повреждённую область (D.V. Ivanovic, 1998; С. М. Champagne, 2002И.З. Гатиатуллин, 2019).

На сегодняшний день описана активная роль тучных клеток в усилении воспалительного процесса у мелких непродуктивных животных. Известно, что IgE -активированные тучные клетки играют активную роль в аллергическом

ответе, однако, не IgE - активированные тучные клетки индуцируют острый воспалительный ответ, после распознавания DAMPs (АТФ; IL33), высвобожденных из повреждённых клеток. После распознавания DAMPs, тучные клетки выбрасывают гистамин, гепарин, протеазы, серотонин и цитокины (TNF- α , IL-1). Большинство из таких медиаторов индуцируют воспаление и дилатацию сосудов (Д.С. Аганов, 2014).

Некротизированные и повреждённые волокна оказывают ингибирующее действие на рост миобластов, а также действуют как физический барьер для их миграции и роста. В таких условиях необходимую роль по «очистке» играют макрофаги, которые с помощью своих рецепторов находят свои клетки мишени (D.J. Ahern, 2011).

Tidball J. G. и соавт. (2017) указывают то, что цитокины, связанные с воспалительным эффектом, оказывают положительный эффект в отношении регенерации мышечных волокон. При этом иммунокомпетентные клетки продуцируют цитокины (фактор некроза опухоли альфа (TNF- α), интерлейкин-1 бета (IL-1 β), интерлейкин (IL-6), трансформирующий фактор роста бета (TGF- β)).

TNF- α и IL-1 β , синтезируемые у животных макрофагами, прямым воздействием увеличивают концентрацию IL-6, способствуя его синтезу, а также индуцируют рост и созревание миобластов, что способствует регенерации мышечных волокон, однако IL-1 β подавляет активность миостатина, что ингибирует рост и регенерацию мышц. Высокие уровни TNF- α и IL-1 β индуцируют пролиферацию миобластов, но ингибируют их дифференциацию (J.G. Tidball, 2017). Низкие уровни данных цитокинов способствуют дифференциации и слиянию миобластов.

Макрофаги, проникшие к месту повреждения, продуцируют инсулиноподобный фактор роста-1 (IGF-1), который в свою очередь катализирует регенерацию мышечных волокон. Метеориноподобный белок (Metrnl/IL-41), продуцируемый скелетными мышцами посредством дифференцировки макрофагов индуцирует синтез IGF-1 (Н. Ochiai, 2012; М. Majrashi, 2023). Провоспалительные макрофаги (M2) способны секретировать TGF- β , что

стимулирует миогенез, посредством склеивания миогенных прекурсоров к дифференцированным клеткам (B. Chazaud, 2020).

При повреждении мышечных тканей у животных зачастую возникает ишемия некоторых сосудов. Ehrbar M (2004) установил, что недостаток ангиогенеза приводит к образованию стойкого фиброза. Данный аспект регулируется фактором роста эндотелия сосудов (VEGF). Автор описал, что при нарушении кровотока в мышцах повышается уровень фактора, индуцирующего гипоксию (HIF), который стимулирует синтез VEGF макрофагами. VEGF взаимодействуя с рецепторами (VEGFR), находящимися на эндотелиальных клетках, способствует их выживаемости, пролиферации и миграции.

У мелких непродуктивных животных прямое участие в ангиогенезе принимают тучные клетки, способствующие коллатеральному ангиогенезу. Данное явление было продемонстрировано на животных с патологиями периферических артерий и описано, как стимулирующее влияние тучных клеток на пролиферацию эндотелиальных клеток сосудов (K. Norrby, 2002).

Однако, недавними исследованиями Chazaud B. (2020) установлено, что многие протеазы, синтезируемые макрофагами, нейтрофилами и тучными клетками, способны негативно влиять на мышечные волокна, путём их лизиса. Определяется это избыточной активацией иммунокомпетентных клеток. Также доказано участие некоторых цитокинов в разрушении мышечных волокон, что приводит к формированию аномального сигнального пути, истощая мышечные волокна (B. Chazaud, 2020).

Саидов М.З. описывает «порочный круг», когда в ответ на повреждение высвобождаются DAMPs, активирующие иммунные клетки с высоким потенциалом выработки провоспалительных цитокинов и хемокинов, запускающий алгоритм разрушения тканей и последующего вторичного воспаления (Г.П. Котельников, 2010; М.З. Саидов, 2023).

При ортопедической травме, помимо нарушений мышечной ткани, возможны повреждения суставов с последующим развитием хронических патологий (М.З. Саидов, 2023). В научных работах Саидова М.З. фигурируют

данные о влиянии иммунной системы на патогенез посттравматического остеоартрита (ПТОА).

Так Chazaud B. описал роль макрофагов в разрушении хрящевой структуры через продукцию IL-1 β и TNF- α . Под влиянием данных цитокинов в хондроцитах ингибируется процесс синтеза агрекана и коллагена. Высвобожденные молекулярные паттерны, после разрушения матрикса, по сигнальным путям активируют синовиальные резидентные макрофаги (B. Chazaud, 2020).

Также на развитие ПТОА влияет и активирующий фактор В-клеток (BAFF) – цитокин из семейства лигандов TNF (I.E. Adamopoulos, 2008). BAFF оказывает стимулирующее влияние на активацию макрофагов путём индуцирующего воздействия на Т-хелперные клетки (Th1). Также BAFF усиливает дифференцировку Th17 – ответственного за ревматоидный артрит (РА). Саидовым М.З. доказано, что повышение концентрации BAFF напрямую коррелирует с развитием РА (D.J. Ahern, 2011).

В ответ на нарушение целостности синовиальной оболочки, в данной области, растёт концентрация иммунокомпетентных провоспалительных клеток, что характеризует начало воспалительного процесса и последующего разрушения тканей (V. Krenn, 2005).

Иммунная система играет важную роль в поддержании гомеостаза костной ткани, так как травма опорно-двигательной системы также включает в себя повреждения и изменения костной структуры (M. Gowen, 1988; H. Ochiai, 2012; Hu K, 2016). Доказана её роль в дифференцировке и контроле активности остеобластов и остеокластов (M.K. Chang, 2008).

Brunetti G. (2005, 2014) доказано, что почти все группы Т-лимфоцитов могут влиять на активность клеток костной ткани, в частности остеокластов.

Установлена роль медиаторов иммунной системы на регуляцию костной резорбции у собак, что оказывает как индуцирующее, так и ингибирующее влияние на остеокласты (G. Brunetti, 2015; S. Feng, 2005).

Несмотря на многолетние исследования роли иммунной системы в патогенезе ортопедической травмы у животных, до сих пор не выявлены новые

возможности терапевтического усиления регенерации костей, хрящей и мягких тканей, путём регуляции иммунного ответа.

1.2 Регенерация кости и стимуляция остеогенеза

Регенерация костной ткани у животных является сложным филогенетическим и онтогенетическим процессом, основанным на гистофизиологических, иммуноморфологических и восстановительных механизмах (А. Огуан, 2014; Е. Болдырева, 2014; А.В. Смирнов, 2014; М.И. Баитова, 2021; Е.С. Кувикова, 2022).

Репаративный остеогенез характеризуется лизисом мелких отломков, повреждённых и некротизированных тканей, неоваскуляризацией, последовательной деятельностью остеогенных клеток (остеоциты, остеокласты, остеобласты), что приводит к созданию новой костной структуры и восстановлению функции макро- и микроорганизма (Т.С. Белохвостикова, 2009; Д.А. Марков, 2006, 2008; А. Огуан, 2014; Д.А. Артемьев, 2021; Э.А. Надыров, 2021).

Отечественными и зарубежными учёными описан репаративный остеогенез (И.Ф. Болаташвилли, 1985; Ю.А. Ватников, 2004; В.В. Анников, 2006). При получении высокоэнергетической травмы, разной этиологии, приводящая к нарушению анатомической целостности кости, формируется первичная гематома, включающая в себя лейкоциты, клетки макрофагального ряда и гистиоциты (Т.П. Виноградова, 1974). Активируется процесс свёртывания крови, основанный на выходе неактивного тромбопластина и присоединении к нему ионов Ca^{2+} , а также факторов плазмы, что образует активный тромбопластин (Т.П. Виноградова, 1974). Активный тромбопластин, в свою очередь взаимодействует с протромбином, Ca^{2+} и факторами плазмы, что приводит к образованию тромбина. После образуется фибрин (тромб), за счёт взаимодействия образованного тромбина с фибриногеном. Данный процесс характеризуется созданием временного фибринозного матрикса и высвобождением молекулярных паттернов (DAMPs).

Следующим этапом в регенерации костной структуры является активация остеокластов под влиянием определённых иммунокомпетентных клеток, что стимулирует продукцию транскрипционных факторов.

Далее осуществляется мощная стимуляция дифференцировки остеокластов за счёт индукции экспрессии фактора некроза опухолей (TNF- α) и ИЛ-1 β (интерлейкин – 1 бета) в клетках-предшественниках остеокластов.

Активность и выживание остеокластов осуществляется благодаря лиганд-рецепторной системе RANK/RANKL/OPG, вызывая их пролиферацию (W.C. Dougall, 1999; Д.С. Аганов, 2014).

Осуществляется дифференцировка в зрелые остеокласты под воздействием фактора, стимулирующего образование колоний макрофагов (M-CSF).

Параллельно происходит активация воспалительного процесса за счёт местной инфильтрации иммунокомпетентными клетками (нейтрофилы, макрофаги) с последующим макрофагальным фагоцитозом некротизированных клеток, а также фибринозного матрикса, что в свою очередь активирует мезенхимальные и остеогенные клетки.

Следующим этапом является пролиферация остеогенных клеток, синтез начального фибринового экстрацеллюлярного матрикса, а также восстановление сосудистого русла, что формирует грануляционную ткань в области повреждения (Д.А. Артемьев, 2022).

Дальнейшей ступенью является формирование костной мозоли. Данный процесс определён созреванием клеточных структур в хондроциты и остеобласты, а также формированием костной ткани, регенерации периоста, с дальнейшим разрушением хондроцитов и минерализацией молодого регенерата и восстановлением кровоснабжения.

Данная первичная костная мозоль проходит алгоритм ремоделирования в результате активации хондрокластов и остеокластов, гибели хрящевой и первичной костной ткани, а также создания Гаверсовой системы и Фолькмановских каналов (Д.А. Артемьев, 2022). Сформированные трабекулы в результате ремоделирования приобретают те или иные черты, характерные для

компактной или губчатой ткани, в зависимости от их локализации и нагрузке на кость (Г.М. Нуруллина, 2018).

Вышеописанное свидетельствует о прямом пути остеогенеза за счёт благоприятных условий со стороны эндооста и надкостницы, пролиферации эндотелиальных клеток сосудов, образовании новой капиллярной сети.

При неблагоприятных условиях (повышенный диастаз, инфекция, неоплазия, отсутствие стабильности отломков) регенерация костной ткани может пойти по эндохондральному пути остеогенеза (P. Aghajanian, 2018).

При таких условиях достаточная васкуляризация не достигается, за счёт чего процессы регенерации происходят в условиях частичной или полной гипоксии (C.S. Melincovici, 2018; P. Aghajanian, 2018; M.G. Burger, 2022).

Данная ситуация напрямую влияет на процессы дифференцировки остеогенных прекурсоров в хондробласты. Такой тип остеогенеза занимает существенное время до полной консолидации и возвращению функциональности ткани, что способствует возникновению ряда осложнений (псевдоартроз, замедленная консолидация, резорбции) (M.G. Burger, 2022).

В современной ветеринарной и гуманной травматологии исследования по стимуляции остеогенеза заключены в трёх явлениях: индукция, кондукция и регенерация, за счёт внесения остеопротекторных элементов. При этом каждое из явлений может быть использовано как в монорежиме, так и в комбинации (Ю.А. Предеин, 2016; Д.А. Коробейникова, 2019; В.А. Конев, 2021).

Известны методы и способы стимуляции остеогенеза за счёт остеоиндуктивных свойств, основанных на усилении пролиферации и дифференцировки клеточной массы (А.В. Волков, 2005; С.В. Чернигова, 2022).

Речь идёт о применении мезенхимальных мультипотентных стволовых клеток (ММСК), стромально-васкулярной фракции, тромбоцитарной взвеси, факторов роста, а также их сочетаний (М. Marcacci, 2007; Т.Б. Бухарова, 2013; А.А. Орлов, 2014; А.В. Иванов, 2017; J.K. Leach, 2018).

ММСК (клетки костного мозга и клетки жировой ткани) обладают высокой способностью дифференцироваться в остеобласты. Однако, существуют

проблемы с получением и культивированием данного материала и его объёма (R. Quarto, 2001).

Стромально-васкулярная фракция (SVF) - клеточный концентрат, выделенный из жировой ткани пациента (стромальные клетки и клетки крови), приводящий к стимуляции дифференцировки клеток, неоваскуляризации, иммуностимуляции, ингибирование апоптоза клеток, а также клеточной регенерации (P.A. Zuk, 2001).

Тромбоцитарная взвесь (тромбоцитами плазма) обладает стимуляционным действием на костную структуру за счёт содержащихся в ней факторов роста, стимулирующие ангиогенез и митоз клеток. Стоит отметить, что стромально-васкулярная фракция и тромбоцитарная взвесь являются аутогенными источниками (В.С Казакова, 2015; Л.П. Родин, 2018).

Известны методы и способы стимуляции остеогенеза за счёт остеокондуктивных свойств, основанных на применении биосовместимых материалов, являющихся мишенью для регенерации (А.В. Попков, 2014). В состав данных материалов можно включать активнордействующий вещества и элементы, обладающие остеиндуктивностью (VEGF, костные морфогенетические белки, стромально-васкулярная фракция (SVF), тромбоцитарная взвесь) (P.A. Zuk, 2001; Т.Б. Бухарова, 2013; А.А. Орлов, 2014; А.Ю. Ваза, 2017; Л.П. Родин, 2018; J.K. Leach, 2018; C.S. Melincovici, 2018).

В качестве остеокондуктивного элемента вводится матричная структура, являющаяся каркасом, формирующую костную ткань. При этом неоостеогенез начинается с алгоритма проникновения в капиллярную сеть периваскулярной структуры, что активирует плюрипотентные клетки тканей реципиента, содействуя заполнению стромы матричной структуры. Следует отметить, что заново образовавшаяся кость претерпевает резорбционный процесс остеокластами и подвергается ремоделированию (И.А. Кирилова, 2008; А.В. Красников, 2020).

К остеокондукции также относится введение аутоотрансплантата (губчатая часть трубчатой кости) в зону перелома или замещение обширных дефектов

костной ткани аутотрансплантатами на сосудистой ножке (Р.Б. Драке, 1983; В.А. Бабоша, 2001; И.Г. Гришин, 2001; К.А. Егиазарян, 2017).

Отдельным направлением в стимуляции репаративного остеогенеза является применение разрабатываемых остеопластических материалов и покрытий для имплантов. Данные материалы и покрытия обладают остеокондуктивными и остеоиндуктивными свойствами, однако, существенная их часть обладает антигенными свойствами, что вызывает сильную ответную реакцию на инородное тело (Д.В. Кирсанов, 2024).

Стимуляция остеогенеза с помощью создаваемых остеопластических материалов и покрытий, на сегодняшний день, изучено недостаточно, что сохраняет за собой актуальность создания инновационной структуры для данных элементов обладающей остеокондуктивными, антиоксидантными, остеоиндуктивными, регенераторными и противобактериальными свойствами.

1.3. Роль цитокинов в ремоделировании костной ткани животных

Цитокины – малые растворимые белковые молекулы, осуществляющие межклеточные взаимодействия, деление, дифференцировку, привлечение клеток, вовлечённых в иммунный ответ (С.В. Бровкин, 2010; Е.Ю. Коршунова, 2012; S. Adeek, 2013; Д.С. Аганов, 2014; А.В. Красников, 2017). Данные эффекты являются основополагающими, в том числе для регенерации костной ткани.

Стоит сказать, что строгая дисциплинированная структура цитокиновой системы обеспечивает запрограммированную последовательность включения одних или иных медиаторов, регулирующих гомеостатические процессы. Регуляция данных медиаторов осуществляется путём параллельной работы возбуждающих и ингибирующих стимулов, полностью контролирующих процесс активации. Любой даже незначительный сдвиг в продукции медиаторов, может оказать влияние на гомеостаз костной ткани (Е.Ю. Коршунова, 2012).

Кофактором, выступающим за регуляцию работы остеокластов и остеобластов в костной ткани животного, являются цитокины, синтезируемые

активированными лимфоцитами. Совокупность данных цитокинов напрямую влияет на ход метаболизма костной ткани.

Зарубежными и отечественными учеными изучаются цитокины, обладающие способностью стимулировать образование и активность остеокластов, так как повышенная проостеокластогенная активность может привести к метаболическим нарушениям с потерей костной массы.

В связи с этим понимание механизмов регулирующих эту активность крайне необходимо для изучения и оптимизации репаративного остеогенеза, а также для минимизации возможных осложнений во время лечения травм у животных.

Агановым Д. С. (2014) доказано, что интерлейкин -1 ($IL-1\alpha$ и $IL-1\beta$) активизирует резорбтивные процессы костной ткани прямым стимулирующим действием на остеокласты и дополнительной активации синтеза цитокина RANKL. Данный цитокин принадлежит к семейству TNF (фактор некроза опухоли), регулирующий остеокластогенез. TNF связывается с рецепторами RANK на поверхности предшественников зрелых клетках остеокластов, что стимулирует их деление, выживание и активацию (Т. Koga, 2004).

Одним из важнейших цитокинов, играющий важную роль в процессах остеокластогенеза, является фактор некроза опухоли- α (TNF- α). Экспериментальным путём доказано, что введение TNF- α мышам приводило к увеличению уровня кальция в сыворотке крови за счёт, индукции дифференциации прекурсоров в остеокласты и резорбцию костной ткани (G. Brunetti, 2014). Данный цитокин, при индукции $IL-1\alpha$, увеличивает экспрессию RANK на поверхности прекурсоров остеокластов. Взаимодействие RANK с его лигандом (RANKL), экспрессируемым стромальными клетками и остеобластами, приводит к формированию и активации остеокластов (W.C. Dougal, 1999; I N. Crotti, 2002; Д.С. Аганов, 2014).

Другими словами, с помощью прямого и косвенного стимулирующего воздействия на остеокластогенез, TNF- α стал важным резорбтивным компонентом в метаболизме костной ткани. При этом TNF- α также ингибирует пролиферацию

и функциональную активность остеобластов, что происходит, в частности, посредством активации сигнального пути JNK (с-Jun N-terminal kinase) и других каскадных реакций, которые приводят к снижению экспрессии генов, ответственных за синтез коллагена и матриксных белков, таких как остеокальцин и остеопонтин. Данный каскад взаимодействий приводит к индукции апоптоза остеобластов, что дополнительно усиливает резорбцию костной ткани за счёт снижения клеточной популяции. Коршуновой Е. Ю (2012) показано, как TNF- α влияет на сосудистое русло в костной ткани, способствуя формированию микрососудистых изменений, которые могут нарушать транспорт питательных веществ и кислорода к клеткам.

TNF- α , активно синтезируемый иммунокомпетентными клетками, играет ключевую роль в остеокластогенезе. За счёт чего обуславливается интерес к анти-TNF-терапии как к одному из методов контроля патологической костной резорбции и травматических осложнений у животных (Е.Ю. Коршунова, 2012).

Интерлейкин – 6 (IL-6). Данный цитокин стимулирует дифференцировку прекурсоров остеокластов путём лиганд-рецепторного взаимодействия. Он синтезируется Т и В лимфоцитами, а также дендритными клетками и остеобластами после стимуляции IL-1 и TNF- α . Повышение концентрации IL-6 наблюдается в условиях хронического воспаления. IL-6 играет важную роль в метаболизме костной ткани, активируя сигнальные пути между другими цитокинами (М. Trovato, 2021).

Интерлейкин – 7 (IL-7), регулирует созревание Т и В лимфоцитов. Данный цитокин стимулирует образование остеокластов за счёт индукции синтеза цитокинов Т-лимфоцитами (N. Manabe, 2001).

Интерлейкин – 3 (IL-3) и гранулоцитарно-макрофагальный фактор (GM-CSF) синтезируется активизированными Т-хелперами и выступают в роли медиаторов, катализирующих дифференцировку лимфоидных и миелоидных предшественников. Данный комплекс оказывает стимулирующее влияние на распространение предшественников остеокластов и лоббирует мобилизацию стволовых клеток прекурсоров остеокластов из костного мозга в циркуляцию

метаболизма костной ткани. Это приводит к увеличению числа участвующих прекурсоров остеокластов. Имеется информация, что повышения продукция данных медиаторов при различных патологических состояниях животного, будет оказывать негативное влияние на остеогенез, затягивая процесс регенерации, а также увеличивая риски возникновения осложнений (G. Brunetti, 2005).

Интерлейкин – 11 (IL-11) обладает остеокластогенной активностью. Он синтезируется некоторыми клетками костной ткани (стромальные клетки костного мозга, фибробласты). IL-11 необходим для нормального процесса регенерации и контроля роста кости. При патологии рецепторов чувствительных к IL-11 регистрируется повышение массы трабекул в структуре кости, что указывает на недостаточный резорбтивный потенциал (Е.Ю. Коршунова, 2012; S. Liu, 2017).

Т-хелперы (Th₁₇) вырабатывают основную часть цитокинов, обладающих способностью индуцировать пролиферацию и дифференциацию остеокластов. Цитокины, синтезируемые Т-хелперами имеют более высокий потенциал в отношении продуктивности RANKL, IL-17 и IL-15. Опытным путём было доказано повышение в плазме крови показателей IL-15 и IL-17 у собак больных ревматоидным артритом. При этом известно, что такие цитокины обладают проостеокластогенной активностью, что приводит к костной резорбции остеокластами и деструктуризации суставов. Из чего следует, что Th₁₇ играют ключевую роль в гомеостазе костной ткани животных, в частности резорбции костной ткани (I.E. Adamopoulos, 2008).

Одним из механизмов влияния Т-клеток на пролиферацию и дифференцировку остеокластов является синтез цитокинов и протеогликанов (IL-4, IL-10, IL-13) (Y.G. Kim, 2007; G. Brunetti, 2005, 2014).

Интерлейкин-4 (IL-4) подавляет созревание остеокластов, оказывая прямое ингибирующее действие в отношении их прекурсоров.

Также совместно интерлейкин-13 (IL-13) подавляет ингибирует синтез простагландинов, а также активность циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2).

Также, данный синергизм способствует индукции синтеза остеопротегерина остеобластами (X. Chen, 2018).

Интерлейкин-10 (IL-10), продуцируемый Т- и В-лимфоцитами прямым воздействием ингибирует остеокластогенез, при этом в тканях костного мозга подавляет деятельность остеобластов в отношении продукции белков и снижает скорость минерализации (G. Brunetti, 2005).

На данный момент известно, что костные морфогенетические белки (BMP) играют ключевую роль в дифференцировке остеобластов (А.И. Бычков, 2013).

Доказано, что цитокины, обладающие провоспалительным и прорезорбтивным действием, также негативно влияют и на остеобластические клетки. К ним относят IL-1, TNF- α , что ингибируют синтез коллагена остеобластами, при этом TNF- α способен подавлять созревание прекурсоров остеобластов (G. Brunetti, 2014). IL-4 индуцирует пролиферацию предшественников остеобластов, но ингибирует их последующую дифференцировку (Е.Ю. Коршунова, 2012).

TGF- β - цитокин (трансформирующий фактор роста β), синтезируемый остеобластами, дендритными клетками, клетками костного мозга и другими иммунными клетками организма. Является модулятором многих процессов, включая ангиогенез, репаративные процессы, а также воспаление и иммунологические реакции. Также индуцирует пролиферацию, дифференциацию остеобластов, продукцию белков внеклеточного матрикса, а также ингибирует апоптоз остеобластов (Н. Ochiai, 2012; D. Gothard, 2014).

Также стоит упомянуть обратную сторону TGF- β , речь идёт о способности подавлять более поздние стадии дифференциации остеобластов и минерализацию костной ткани. Отмечается дозозависимый эффект TGF- β , так в низких концентрациях он стимулирует дифференциацию прекурсоров в многоядерные остеокласты, а в высоких концентрациях действует прямо противоположно (Н. Ochiai, 2012).

На основании вышеизложенного можно сделать вывод о том, что в организме животных клетки иммунной системы, через синтез определённых

медиаторов, создают уникальный комплекс взаимодействия, посредством которого осуществляется метаболизм костной ткани. При этом любые нарушения влекут за собой дисбаланс цитокинового профиля, оказывающий негативное влияние, как на формирование костной ткани, так и на резорбцию костей, что приводит к нарушениям в ремоделировании костной ткани. И в связи с этим оптимизация репаративного остеогенеза, за счёт применения биоматериалов и покрытий, требует исследование иммунологического статуса животных.

1.4 Роль антиоксидантной системы в метаболизме костной ткани

Активные формы кислорода (АФК) синтезируются живыми организмами в результате физиологического клеточного метаболизма. В низких и умеренных концентрациях АФК задействуются в физиологических процессах клеток, однако в высоких концентрациях вызывают неблагоприятные изменения в клеточных структурах (B. Halliwell, 1999).

В антиоксидантной системе живых организмов имеются как ферментативные и не ферментативные антиоксиданты. Данная система, в обычном состоянии, эффективно справляется с нежелательными явлениями высокой концентрации АФК. При тяжёлых патологических состояниях антиоксидантная система испытывает стрессовые перегрузки.

Источником АФК могут служить как эндогенные, так и экзогенные факторы. АФК образуются из молекулярного кислорода, как один из результатов физиологического клеточного метаболизма. Их принято разделять на две основные группы: свободные радикалы и нерадикальные формы.

К свободным радикалам относятся молекулы, содержащие один или несколько неспаренных электронов, что говорит об их реакционной способности. К АФК имеющим физиологическое значение относятся: гидроксильный радикал ($\text{OH}^\cdot$), супероксид-анион ($\text{O}_2^\cdot$) и перекись водорода (H_2O_2) (D.M. Miller, 1990).

Образование $\text{O}_2^\cdot$ обусловлено присоединением электрона к молекулярному кислороду, под контролем никотинамидадениндинуклеотидфосфадазы (NADPH) или ксантиноксидазы, а также митохондриальной системой переноса электронов.

NADPH - оксидаза содержится в иммунокомпетентных клетках (лейкоцитах, моноцитах и макрофагах). При фагоцитозе иммунокомпетентные клетки синтезируют большое количество супероксида, чем и обусловлена их бактерицидная активность (D.M. Miller, 1990).

Супероксид под влиянием супероксиддисмутаза (СОД) метаболизируется в H_2O_2 , также H_2O_2 вырабатывается ксантиноксидазой и NADPH – оксидазой (C. Duzy, 1997).

O_2^- при определенных условиях вступает в реакцию с H_2O_2 и образует OH^- . Данный гидроксильный радикал является наиболее реактивной формой АФК и обладает способностью повреждать белки, липиды, углеводы и ДНК, а также инициировать перекисное окисление липидов (F. Haber, 1934).

При наличии хлорид-ионов H_2O_2 превращается в хлорноватистую кислоту (HOCl), которая обладает высокой окислительной способностью, выраженной бактерицидной активностью и негативным влиянием на ДНК (M. Whiteman, 1997; P.A. Kulcharyk, 2001).

Пероксильные радикалы (RO_2) также относятся к группе свободных радикалов. Одним из представителей этой группы является гидропероксильный радикал (HO_2), способный к перекисному окислению жирных кислот, путём отщепления атома водорода от метиленового углерода боковой цепи, образуя дополнительный пероксильный радикал за счет реакции липид-радикала с кислородом. Данные пероксильные радикалы индуцируют цепную реакцию с полиненасыщенными жирными кислотами, образуя гидропероксиды липидов. Данные структуры нестабильные и легко реструктурируются.

Одним из продуктов распада гидропероксида липидов является малоновый диальдегид (МДА), являющимся характерным маркером окислительного стресса. Перекисное окисление липидов нарушает целостность клеточных мембран и приводит к изменению их структуры (L.J. Marnett, 1999; С. Каспарова, 2005).

С точки зрения физиологии кость можно представить, как динамическую систему, саморегуляция которой обуславливается балансом между процессами восстановления и резорбцией. Неотъемлемую часть в этом процессе играют

окислительно-восстановительные реакции, основным регулятором которых выступает антиоксидантная система. Активные формы кислорода, синтезируемые в процессе воспаления, выполняют сигнальные функции, регулируя пролиферацию, дифференцировку, апоптоз остеобластов и остеокластов.

Сдвиг в сторону избыточного накопления АФК приводит к окислительному стрессу, нарушающего минерализацию матрикса и снижающего активность остеоцитов, что приводит к развитию патологий, включая остеопороз и остеоартрит (P.L. Liu, 2023).

Антиоксидантная система организма, с помощью ферментов и низкомолекулярных антиоксидантов (витамин С и Е, глутатион), нейтрализует АФК, что поддерживает гомеостаз костной ткани.

Рост микрофлоры, воспаление, метаболические нарушения относятся к факторам, вызывающим окислительный стресс, препятствующим восстановлению костных дефектов. Повышенное содержание АФК нарушает созревание и дифференцировку остеобластов, снижает минерализацию костного матрикса, что ингибирует процесс остеогенеза (D.J. Jörg, 2022).

Окислительный стресс подавляет образование сосудистых эндотелиальных клеток, препятствуя ангиогенезу – одному из важных этапов в консолидации кости (R.C. Kukreja, 1992; С. Каспарова, 2005).

Под влиянием АФК воспалительный процесс пролонгируется, иммунокомпетентные клетки продолжают синтезировать провоспалительные цитокины, образуя тем самым «порочный круг», который катализирует окислительный стресс (P.L. Liu, 2023).

Чрезмерное накопление АФК усиливает путь RANKL, способствуя созреванию и активации большого количества остеокластов, что характеризует преобладание катаболизма над процессами костеобразования (P.L. Liu, 2023).

Известно, что в организме животных, для борьбы с оксидативным стрессом, имеется сложная система антиоксидантов, поддерживающих баланс с окислителями.

Ключевыми ферментами, нейтрализующими АФК, являются супероксиддисмутаза (СОД), каталаза и глутатионпероксидаза (ГПО) (Н.Н. Kirkman, 1999; J.R. Arthur, 2000; I.N. Zelko, 2002).

Супероксиддисмутаза играет первостепенную роль в антиоксидантной защите, поскольку O_2^- является основной АФК. Данный фермент индуцирует дисмутацию O_2^- в H_2O_2 (I.N. Zelko, 2002).

Каталаза и ГПО участвуют в дальнейшем восстановлении H_2O_2 до воды, предотвращая накопление реактивных форм кислорода (Н.Н. Kirkman, 1999; J.R. Arthur, 2000).

ГПО играет особую роль в защите организма от окислительного стресса, так как она не только нейтрализует H_2O_2 , но и участвует в процессе восстановления гидропероксидов липидов, образующихся в процессе перекисного окисления липидов. ГПО представляет собой семейство тетрамерных ферментов, содержащих уникальную аминокислоту – селеноцистеин. Каталитическая активность ГПО во много зависит от наличия низкомолекулярных тиолов, таких как глутатион, который служит кофактором в реакциях восстановления пероксидов до соответствующих спиртов (F.F. Chu, 1993; J.R. Arthur, 2000; И.В. Гаврюшина, 2010).

Однако, несмотря на имеющиеся у организма ресурсы для регуляции уровня АФК, в реальности мы видим, что при получении обширных травм, переломов костей, длительного процесса регенерации ресурсы истощаются, что приводит к накоплению АФК и развитию негативного влияния окислительных процессов в тканях. При этом время для восстановления от полученных травм увеличивается, как и увеличивается риск развития дегенеративно-дистрофических осложнений.

Для поддержания оптимального уровня антиоксидантных ферментов, необходимо дополнять стандартные протоколы лечения препаратами способными проявлять антиоксидантную активность или биоактивными компонентами, стимулирующими выработку собственных ферментативных антиоксидантов.

В контексте репаративного остеогенеза стоит рассмотреть добавление селена (Se) или в монорежиме, или в комбинации биокомполитов, или покрытий

для имплантов, так как данный компонент является структурным элементом аминокислоты селеноцистеина и основного компонента ферментативного антиоксиданта ГПО.

1.5 Покрытия для имплантатов, используемые в ветеринарной травматологии и ортопедии

Покрытия имплантов играют решающую роль в ветеринарной и гуманной медицине (травматология / ортопедия), из-за значительного влияния на регенерацию костной ткани на микро - и макроуровнях живого организма (Д.В. Кирсанов, 2024).

В последние годы, достижения учёных привели к разработке различных покрытий и имплантов, которые улучшают биосовместимость, снижают уровень инфекций, способствуют остеointegrации и обладают остеоиндуктивными, а также остеокондуктивными свойствами.

Покрытия имплантов, по их воздействию на остеогенез, классифицируют на несколько категорий (Ю.М. Ирьянов, 2014; А.В. Попков, 2014):

Биотолерантные (нержавеющая сталь, кобальтохромовые сплавы) – приводят к образованию фиброзной ткани между имплантатом и костью. Остеогенез протекает по дистантному типу с сохранением стандартных сроков, но на удалении от имплантата.

Биоинертные (оксиды титана, алюминия) – обеспечивают прямой контакт с костной тканью без образования фиброзной ткани, сохраняют нормальные сроки сращения.

Биоактивные (кальций-фосфатная керамика, кремниевое биостекло) - создают химические связи с костью по механизму связующего остеогенеза, стимулируя остеointegrацию и ускоряют остеогенез (И.Н. Щаницын, 2019).

Имплантаты с высоким уровнем биологической активности способны эффективно взаимодействовать с окружающими тканями, за счёт таких характеристик, как остеокондуктивность и остеоиндуктивность (О.В. Бейдик, 2006). Суммарно, эти свойства формируют понятие - биосовместимость, которая

обозначает способность биоматериала выполнять необходимые функции при заживлении костных дефектов и обеспечивать успешный клинический исход. Кальций-фосфатные соединения полностью соответствуют данным критериям, создавая микро- и нанопористую структуру, которая способствует активной остеоинтеграции на поверхности имплантата (А.В. Попков, 2014; К.С. Казанин, 2015; К. Ishikawa, 2018).

На данный момент такими соединениями являются гидроксиапатит – минерал с химической формулой $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, является основой минерального компонента костной ткани, а также октакальцийфосфат ($\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), трикальцийфосфат ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) и кислые фосфаты кальция (CaHPO_4) (А.А. Гринь, 2010; А.М. Аронов, 2010; М.А. Хлусов, 2012; Ю.М. Ирьянов, 2014; В.В. Бочкарев, 2015; А.В. Волков, 2005, 2015).

Экспериментально доказано, что кальций-фосфатные соединения, присутствующие в покрытиях, вызывают более раннюю консолидацию костной ткани (А.А. Гринь, 2010; М.А. Хлусов, 2012; А.В. Ю.М. Ирьянов, 2014; Ш.М. Ахмедов, 2015; Д.А. Артемьев, 2022, 2023; Д.А. Артемьев, В.С. Клоков, 2024).

В 2014 году было проведено исследование (Ю.М. Ирьянов, 2014), с проведением остеосинтеза на собаках с открытыми оскольчатыми переломами большеберцовой кости. В работе применялись специальные погружные стержни, пластины, а также АВФ (аппарат внешней фиксации) с нанесённым биоактивным покрытием на основе гидроксиапатита. Положительный остеоиндуктивный эффект покрытия определен отсутствием воспалительных процессов в послеоперационный период в областях размещения металлоконструкций. Процесс консолидации перелома осуществлялся в ранние сроки по первичному типу, исключая формирования хрящевой ткани.

В качестве модификации таких покрытий, для повышения биоинтеграции, в их состав стали добавлять, как органические, так и не органические соединения. На данный момент внимание исследователей приковано к гибридно-композитным покрытиям, которые наряду с кальций-фосфатным соединением содержат органические компоненты (костные морфогенетические белки, коллаген, ионы

металлов) (М.З. Федорова, 2011; А.И. Бычков, 2013; А.В. Попков, 2014; А.Ю. Ваза, 2017; Д.А. Артемьев, В.С. Клоков, 2023; Д.А. Артемьев, 2024).

Фёдоровой М.З. и соавт. было проведено экспериментальное исследование, в котором имплант с биоактивным покрытием, на основе гидроксиапатита, костного морфогенетического белка-2 и коллагена 1-го типа, интегрировали в процессе остеосинтеза. Было отмечено значительное уменьшение сроков сращения перелома, усиление адгезионных свойств импланта с костной тканью, а также повышение неоваскуляризации в области перелома (М.З. Фёдорова, 2011).

Зеличенко Е.А. и соавт. разработали и апробировали титановые стержни с покрытием из гидроксиапатита в комбинации с германием (Ge). Установлено, что имплант с покрытием из 5% германия и гидроксиапатита индуцирует репаративный остеогенез (Е.А. Зеличенко, 2017).

Изучены свойства полимерных компонентов (тетрафторэтилен с винилиденфторид) в составе биоактивного покрытия имплантов на основе гидроксиапатита (ГА). Аронов А.М. и соавт. экспериментальным путём сравнили разные соотношения органических и не органических фракций (30:70; 50:50; 70:30). Наиболее выраженные качества были отмечены у покрытий, содержащих 30% ГА (А.М. Аронов, 2010).

Макаровым В.Б. и соавт., для улучшения адгезионных свойств, разработали алмазоподобное покрытие титановых имплантов. Авторами утверждалось о лучшей износостойкости, низким коэффициентом трения и биосовместимости такого покрытия. Исследователями был смоделирован перелом метафиза бедренной кости у лабораторных животных (крысы). В процессе остеосинтеза в зону перелома был интегрирован штифт с углеродным покрытием. В результате гистоморфологических исследований определено то, что у крыс, в процессе остеосинтеза, где применён имплант с разработанным покрытием, остеоинтеграция была выше на 150-200% в отличие от контрольной группы животных (В.Б. Макаров, 2020).

Ещё одним вектором исследования по разработке покрытий имплантов является модификация самой поверхности покрытия для достижения лучших

коррозийных свойств. На данный момент известно, что при контакте биологических жидкостей с имплантатами возникает коррозия, приводящая к выходу ионов металла в свободное пространство. Свободные ионы впоследствии аккумулируются в области имплантации, что индуцирует миграцию иммунокомпетентных клеток (макрофаги), поглощающие частицы металла. Данный процесс также сопровождается местной резорбцией костной ткани в области соприкосновения имплантата с костью, что приводит к повышению уровня цитокинов и интерферонов (Е.В. Круглова, 2017).

Для того чтобы снизить к минимуму негативные эффекты Ахтямов И.Ф. и соавт. (2015) разработали специальные покрытия резистентные к окислительному влиянию биологических жидкостей. Экспериментально проанализированы покрытия металлоконструкций из сверхтвёрдых соединений титана и гафния (А.Э. Изосимова, 2016). Результаты данных экспериментов подкреплены гистоморфологическим анализом региональных лимфатических узлов, клинико-биохимическим анализом крови. Определен вывод о повышении биосовместимости имплантов, сокращении сроков консолидации переломов при использовании разработанного покрытия металлоконструкций.

Одним из вариаций совершенствования имплантов является профилактика развития микрофлоры в зоне перелома. Речь идет о постоперационных осложнениях в виде развития раневой инфекции. Известно, что при погружном остеосинтезе, по случаю закрытых переломов, частота её развития достигает 10%, а при лечении открытых переломов до половины всех случаев (Г.Е. Афиногенов, 1993; Д.В. Тапальский, 2013; В.И. Виденин, 2019; О.П. Савчук, 2023).

Все известные антибактериальные покрытия можно разделить на 2 группы: активные и пассивные.

К группе активных антимикробных покрытий относят такие, в состав которых включены антибактериальные агенты. Данные активноразрушающие вещества высвобождаются под влиянием процессов резорбции покрытия биологическими жидкостями организма. Как правило, основой для таких

покрытий служат пористые материалы, такие как гидроксиапатит (Г.Е. Афиногенов, 1993; А.В. Попков, 2014).

Группа пассивных противомикробных покрытий предотвращает адгезию микроорганизмов на поверхность металлоконструкции, за счет повышенной остеоинтеграции остеогенными клетками, при этом снижается вероятность адгезии бактерий и формирования биопленки (М. Cloutier, 2015; Н. О. Gbejuade, 2015).

Таковыми бактерицидными свойствами обладают ионы некоторых металлов.

В составе антибактериальных покрытий имеют место наночастицы металлов (Ag, Cu, Zn), антисептики (I, хлоргексидин), а также антибактериальные средства разных групп.

Савчук О.П. и соавт. предложили покрытие имплантов на основе биосовместимого полимера (полилактид) содержащее ионы серебра, а также ципрофлоксацин. Экспериментальным путём установлены высокие бактерицидные свойства с отличной биосовместимостью данного покрытия. Что определено негативным влиянием ионов серебра на мембраны бактерий, а также ингибирующим свойством ципрофлоксацина на ДНК-гиразу бактерий, блокируя их размножение (N. Xu, 2017; О.П. Савчук, 2023).

Стоит отметить, что серебро имеет свойства цитотоксичности (в отношении остеобластов и остеокластов), генотоксичности, вызывать аллергическую реакцию и воспаление, а также нарушать остеоинтеграцию металлоконструкции (Y. Qing, 2018).

Азаматов Б.Н. и соавт. установлены бактерицидные свойства меди (Cu) наряду с её низкими значениями цитотоксичности и кумуляции в организме (Б.Н. Азаматов, 2022, 2024).

Так же известны результаты применения магния (Mg) в составе антибактериальных покрытий. Исследованием *in vitro* показано, что данный элемент является подходящим компонентом для противомикробного биоинтегрированного покрытия. При этом культурами клеток остеобластов и *S. Epidermidis* экспериментальным путём показаны его бактерицидные и

биосовместимые качества (B. J. Luthringer, 2014; D. Haffner, 2017; S. Zaatreh, 2017).

Также перспективным направлением, в совершенствовании и разработке покрытий металлоконструкций, является добавление в их состав оксидов металлов. Известно, что выделение из оксидов металлов наночастиц кислорода способно оказывать повреждающее действие на ДНК, белки и дыхательные функции бактерий, приводя их к гибели (Е.М. Гордина, 2023).

Так (Гордина Е.М. и соавт) экспериментальным путём *in vitro* и *ex vivo* доказали такие способности у группы оксидов металлов в покрытии на основе полимеров. В состав экспериментальных покрытий входили комплексы, содержащие оксид серебра с одним из установленных оксидов (ZnO, CuO, MgO, TiO₂ и Al₂O₃). Наиболее выраженными бактерицидными свойствами и наименьшей цитотоксичностью обладает комплекс оксида цинка и оксида серебра (Е.М. Гордина, 2023).

В настоящее время существует ряд проблем связанных с применением антибактериальных средств, за счет растущей устойчивости микрофлоры к антимикробным препаратам. На данный момент предложены материалы, не обладающие антимикробной активностью, но препятствующие адгезии микрофлоры. К данным элементам относят: полиметакриловая кислота (C₄H₆O₂), полиэтиленгликоль (C₂H₄O), кристаллический оксид титана (TiO₂), полиэтиленоксид (C₂H₄O) имеют антиадгезивные свойства в отношении микрофлоры, однако, также препятствуют остеоинтеграции импланта (В.П. Тамакова, 2011; РР. Li, 2023).

Существует методика снижения адгезии микрофлоры к поверхности металлоконструкции с помощью гидрофильных веществ (гиалуронат натрия, гидрогелевые и гепариновые покрытия) (L. Drago, 2014).

Drago L. экспериментальным путём доказал, что покрытие содержащие гиалуронат натрия имеет высокую способность препятствовать адгезии микрофлоры к имплантам, за счёт молекул воды (L. Drago, 2014) на своей поверхности.

Урбанизация, способствующая повышению количества домашних животных и, как следствие, увеличению заболеваний опорно-двигательного аппарата, создает спрос на инновационные импланты, обеспечивающие быструю и надежную регенерацию костной ткани.

В связи с этим, разрабатываемые покрытия для имплантов должны иметь остеокондуктивные, остеоиндуктивные и антибактериальные свойства, способствующие улучшению заживления костной ткани, повышая адгезивные свойства, снижая вероятность отторжения имплантов и развития раневой инфекции. Также данные разработки должны обладать антиоксидантными свойствами, так как они, в свою очередь, могут значительно улучшить биосовместимость материалов, снижая оксидативный стресс, что также способствует более эффективному заживлению и восстановлению тканей.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Методология, материал и методы исследования

Исследования, предоставленные в данной диссертационной работе, проводились в период с 2022 по 2025 год в условиях ФГБОУ ВО Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова.

Экспериментальная составляющая работы осуществлялась на кафедре «Болезни животных и ВСЭ» в ЦКП «Молекулярная биология» Института ветеринарной медицины и фармации, клинические исследования проводились на базе ветеринарных клиник города Саратова (Приложения 2, 3, 4)

Предметом и материалом исследования диссертационной работы определены физико-химические, общетоксические параметры модифицированного наночастицами селена (nSe) покрытия имплантов, клинико-гематологические (n=216), биохимические (n=216), рентгенологические (n=216), гистоморфологические (n=12) и иммуногематологические (n=324) показатели.

Объектом исследований определены лабораторные и клинические животные (мыши, n=50; кролики, n=40; собаки, n=54).

Экспериментальная часть работы характеризуется четырьмя последовательными этапами (Рисунок 1).

Первый этап заключается в модификации оригинального покрытия имплантов наночастицами селена (nSe) для добавления ему антиоксидантных свойств, за основу взято 3,5% оригинальное покрытие для имплантов (Патент №2817049) в которое внесены наночастицы селена (nSe).

Второй этап посвящён изучению общетоксических свойств модифицированного покрытия на лабораторных животных, а также оценки безопасности его применения на целевых видах животных.

Исследование токсичности модифицированного покрытия проводилась согласно межгосударственному стандарту ГОСТ 31926-2013. Опыты с лабораторными и целевыми животными осуществлялись в соответствии с

«Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (от 12.08.1977 г. №755), ГОСТ ISO 10993-1-2011.

ПЕРВЫЙ ЭТАП			
Модификация остеопластического покрытия имплантов наночастицами селена (nSe)			
ВТОРОЙ ЭТАП			
Общетоксические свойства модифицированного остеопластического биоконпозиционного покрытия наночастицами селена (nSe) для имплантатов			
Оценка острой токсичности (мыши, n=50)	Оценка раздражающего действия покрытия для имплантов на кожу (кролики, n=20)	Оценка раздражающего действия покрытия для имплантов на слизистую оболочку (кролики, n=20)	Оценка аллергизирующего действия покрытия для имплантов (кролики, n=20)
ТРЕТИЙ ЭТАП			
Специфическая остеорепаративная активность модифицированного остеопластического биоконпозиционного покрытия наночастицами селена (nSe) для имплантатов (собаки, n=54)			
Клинико-гематологическое исследование	Биохимическое исследование	Рентгено-гистоморфологическое исследование	Иммуногематологическое исследование
ЧЕТВЕРТЫЙ ЭТАП			
Сравнительная характеристика оригинального и модифицированного остеопластического биоконпозиционного покрытия наночастицами селена (nSe) для имплантатов			
Биохимическое исследование		Иммуногематологическое исследование	

Рисунок 1 – Дизайн исследования

Настоящее исследование проведено в полном соответствии с утвержденным протоколом и стандартными операционными процедурами.

Формат исследования определен «Правилами проведения доклинического исследования лекарственного средства для ветеринарного применения, клинического исследования лекарственного препарата для ветеринарного применения, исследования биоэквивалентности лекарственного препарата для ветеринарного применения» (от 06.03.2018 г. № 101).

Экспериментальные животные содержались в идентичных зоогигиенических условиях, согласно рекомендациям по содержанию и

кормлению лабораторных животных (ГОСТ 33215-2014). Проведение опытов регламентировалось «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (от 12.08.1977 г. №755).

В эксперименте использовались инбредные белые мыши альбиносы линии BALB/CJLac, генотипа – b, c, H-2d, возрастом 2,0-2,5 месяца, массой: 20-22 г. В экспериментах участвовали животные, ранее не задействованные в исследованиях.

Кролики породы Шиншилла (Возраст: 7 месяцев. Масса: 2,5-3,1 кг.). В исследования были отобраны животные, ранее не задействованные в исследованиях.

Поставщик лабораторных животных: Филиал «Столбовая» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства» России (ИНН 7709379649; e-mail: biomaus@mail.ru; Т 8(916)0210076; Адрес: 142350 Московская область, город Чехов, рабочий поселок Столбовая, ул. Мира д.1.

Лабораторные животные содержались в условиях вивария института ветеринарной медицины и фармации.

Содержание лабораторных животных осуществлялось в виварии ИВМиФ ФГБОУ ВО Вавиловский университет в соответствии с Постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 28 января 2021 г. № 4 «Об утверждении санитарных правил и норм СанПин 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

Кормление мышей проводилось гранулированным полнорационным кормом ГОСТ Р 51849-2011 Р.5 и фильтрованной водой *ad libitum*.

Мыши содержались в боксах из поликарбоната. В каждом боксе было не больше 4-х голов. В качестве подстилки были использованы древесные опилки.

Содержание кроликов осуществлялось в клетках размером 50x45x35 см, в каждой клетке не боле 2-голов. В качестве подстилки использовались древесные

опилки. Рацион состоял из комбикорма. Для обеспечения поения «ad libitum» использовались стандартные поилки и вода.

Условия микроклимата измерялись и регистрировались ежедневно. Животных содержали при температуре 20-22°C и относительной влажности воздуха – 60-70%. Освещение – естественно-искусственное.

Распределение животных по группам производилась по принципу «случайных чисел», при этом отклонения по весу не превышали 10% от среднеарифметического. Измерение массы тела проводили при помощи весов PIONEER PA (OHAUS).

Каждое животное было идентифицировано и промаркировано с помощью пикриновой кислоты. Клетки также подвергались маркировке, информация на ней включала в себя: название опыта, временные рамки, номер группы, количество исследуемых животных, ответственное лицо. Подготовку к испытаниям и валидацию методов проводили согласно ОФС.1.2.4.0004.15 Аномальная токсичность (ГФ XII, ч.1, ОФС 42-0060-07), а также ГОСТ 12.1.007-76. Перед началом испытания животных не кормили и не поили, были проведены контрольные взвешивания с распределением по группам с маркировкой, по истечению двух часов после опытов производили очередное взвешивание.

Третий этап посвящён определению специфической остеорепаративной активности модифицированного остеопластического биокomпозиционного покрытия наночастицами селена (nSe) (включает в себя: 1,0 грамм гидроксиапатита, 1,0 грамм метилурацила, 0,05 грамма амоксициллина, 3,5 грамма полилактида, концентрат стабилизированных наночастиц селена размером 1-2 нм.) для имплантатов за счёт клинико-гематологического, биохимического, рентгено-гистоморфологического, иммуногематологического исследований на целевых животных при лечении анатомических нарушений костной ткани у 54 собак в период с 2023 по 2024 год, в условиях ветеринарной клиники города Саратова - DoctorVet.

После операции за пациентами осуществлялся систематический мониторинг основных показателей организма: температуры тела, цвета видимых слизистых

оболочек, количества дыхательных движений, аппетита, кратности и качества дефекации и мочеиспускания, регистрировались симптомы воспалительного ответа в области оперативного вмешательства, а также в месте контакта металлоконструкции с костью, в том числе состояние швов, также фиксировали функциональную составляющую оперированных конечностей.

Протокол анестезиологического сопровождения включал в себя:

- премедикацию (Цефазолин - 20 мг/кг, в/в; Анальгин - 20 мг/кг, в/в; Дексдомитор - 4 мкг/кг, в/м);
- индукцию (Телазол - 0,5 мг/кг, в/в; Пропофол - 2 мг/кг, в/в);
- интубацию трахеи ЭТТ (эндотрахеальная трубка);
- поддержание наркоза ингаляционным препаратом «Изофлюран» - 1,5 об%. Процесс дыхания определен ИВЛ (искусственная вентиляция легких) (Mindray Veta 5, Китай);
- анальгезию (Лидокаин болюс - 1 мг/кг, в/в, далее ИПС (инфузия с постоянной скоростью) Лидокаин 30 мкг/кг/мин + Дексдомитор - 0,5 мкг/кг/час), Телазол - 2,0 мг/кг, в/в.

Среднестатистическое время анестезии 90 минут, время пробуждения 20 минут. Послеоперационная анальгезия (Мелоксивет 0,2% - 0,06 мл/кг, п/к; ИПС Лидокаин + Дексдомитор).

Рентгенографическое исследование в динамике проводили с помощью рентгеновского аппарата Eсо Ray Orange 1040HF с DR-панелью (Панель-детектор PZ-medical 1417) (Южная Корея). Для контроля минерализации, в области перелома, обрабатывали оцифрованные изображения рентгеновских снимков, исполненных в двух стандартных (латеро-медиально, дорзо-вентрально) ортогональных проекциях: на аппаратно-компьютерном комплексе «ZOOMED» (ПО: VetConsole; Версия ПО: V5.0.0.6; Название фирмы: PZMedical; Авторские права: Copyright© 2021 PZMedical Technology Company Limited) до, после операции, а также на 30-е и 50-е сутки после оперативного вмешательства.

Для оптимизации визуализации у пациентов мелких пород произведена калибровка рентген-аппарата с установкой следующих параметров: проникающая

способность лучей в пределах 40-60 киловольт (kV), сила тока, коррелирующая с массой тела, в диапазоне 40-80 миллиампер (mA), и длительность экспозиции (выдержка) от 50 до 100 миллисекунд (mSec).

Морфологический состав периферической крови изучали на автоматизированном гематологическом анализаторе Mindray BC-2800 Vet (Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.) с применением реагентов Diatron. Аспирацию венозной крови осуществляли согласно правилам асептики из краниальных вен предплечья в утренние часы после 12-часовой голодной диеты. Для клинического анализа отбирали пробы крови объемом 2.0-3.0 мл: до и через 3, 14 и 28 дней после оперативного вмешательства. Исследование цитокинового профиля проводили на образцах крови, полученных до операции, а также через 3, 14, 38, 42 и 56 дней после неё, используя вакуумные системы для аспирации крови Lind-Vac объемом 1 мл, с K2ЭДТА в качестве антикоагулянта (производство OÜ InterVacTechnology).

В рамках гематологического анализа определяли лейкоциты (WBC), абсолютные и относительные показатели лимфоцитов (LYM), гранулоцитов (GRA) и смеси моноцитов, базофилов, эозинофилов (MID), эритроциты (RBC), гемоглобин (HGB), гематокрит (HCT), тромбоциты (PLT), эритроцитарные индексы, тромбоцитарные параметры.

Биохимический анализ сыворотки крови проводили на полуавтоматическом анализаторе Mindray BA-88A с реагентами Диакон-ДС. Аспирация крови для клинического и биохимического исследований выполняли одномоментно, используя пробирки с активатором сгустка SiO_2 . Образцы центрифугировали при 3,5 тыс. об/мин в течение 10 минут на центрифуге 1248R (GYROZEN). В биохимическом профиле оценивали: аланинаминотрансферазу (ALAT), аспартатаминотрансферазу (ASAT), щелочную фосфатазу (ALKP), общий белок (TP), альбумин (ALB), глобулин (Glob), мочевины (Urea), креатинин (Cre), общий билирубин (Tbil), глюкозу (Glu), ГГТ (GGTP), кальций (Ca), фосфор (P), магний (Mg), натрий (Na), калий (K).

Исследование биологических характеристик костных тканей проводилось в рамках морфологического анализа с использованием светооптической микроскопии декальцинированных гистологических срезов и гистотопограмм. В ходе работы оценивались направление, динамика и эффективность процессов консолидации, васкуляризации и ангиогенеза, а также структурные особенности костных регенератов, сформированных после применения модифицированного покрытия.

У собак выполнили однократную процедуру изъятия костного регенерата методом перпендикулярной трепанобиопсии из средней части диафиза бедренной кости. Процедура осуществлялась с помощью трепана BEST LISAS BSL1305 13G, предназначенным для биопсии костной ткани.

Первоначально выполняли декальцификацию полученных образцов в декальцинаторе на основе смеси муравьиной и соляной кислот (до 72 часов).

Контроль эффективности декальцинации осуществляли комплексно: методом инструментальной оценки плотности тканей, тестированием проколом иглой, а также повторным взвешиванием материала.

На следующем этапе проводили фиксацию образцов в формалине сроком до 10 суток. После фиксации материал промывали в проточной воде в течение 5–60 минут, после чего выполняли его дополнительную фиксацию и нарезку на замораживающем санном микротоме модели MC–2.

Полученные срезы аккуратно расправляли в ёмкости с дистиллированной водой, после чего с использованием тонкой кисточки переносили на предметные стёкла, предварительно обработанные адгезивной жидкостью, которая представляла собой смесь глицерина и профильтрованного через бумажный фильтр яичного белка в соотношении 1:1. Стекла с образцами оставляли для высыхания на 24 часа, после чего проводили окрашивание гистологических препаратов тионин-пикриновой кислотой по методике Шморля.

Исследование гистологических срезов осуществляли на микроскопе «Микромед 3» (ЛЮМ LED, Китай) при различных степенях увеличения. Для

детального анализа использовали комбинацию окуляров 10 × с тремя объективами, обеспечивающими увеличение в 100, 200 и 400 раз.

Цитокиновый профиль анализировали методом твёрдофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с применением коммерческих тест-систем производства «Белки антитела РФ» (Cloud-Clone Corp., сертификация ISO 13485:2016 / ISO 9001:2015). Измерения проводили на ИФА-анализаторе «TSM FC» (США).

Для оценки показателей окислительного стресса (активность глутатионпероксидазы – ГПО и уровень малонового диальдегида – МДА) у собак использовали спектрофотометрический метод на приборе UV-1800 (Shimadzu, Япония).

Для определения уровня МДА сыворотке крови добавляли реакционную смесь, содержащую 0,8% раствор тиобарбитуровой кислоты (ТБК) и 20% раствор трихлоруксусной кислоты (ТХУ). Для количественного расчёта использовали стандартные растворы МДА, по которым строили калибровочную кривую. Оптическую плотность полученных проб измеряли при длине волны 532 нм.

Определение концентрации ГПО проводили по той же методике, однако, реакционная система включала фосфатный буфер (pH 7,0), восстановленный глутатион (GSH), глутатионредуктазу, плазму животных и восстановленную форму никотинамидадениндинуклеотидфосфата (NADPH). Активность фермента оценивали спектрофотометрически при длине волны 340 нм, регистрируя скорость окисления NADPH.

Четвертый этап описывает сравнительную характеристику оригинального и модифицированного остеопластического биоконпозиционного покрытия наночастицами селена (nSe) для имплантатов за счёт биохимического и иммунологического исследований.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программ Microsoft Excel (Microsoft Corporation, США), AtteStat 2023 и StatPlus 2009 Portable 5.8.3.0 (AnalystSoft, США). Различия между опытными и контрольными группами оценивали по t-критерию Стьюдента. Среднеарифметические значения,

стандартные отклонения и стандартные ошибки среднего рассчитывали для выборок ($n = 6$) с уровнем значимости 95% ($p = 0,05$). Достоверность различий определяли двухвыборочным непарным t-тестом с неравными дисперсиями, используя формулу:

$$t = \frac{|x_1 - x_2|}{\sqrt{s_1^2 + s_2^2}}$$

Где x_1, x_2 – средние значения, s_1, s_2 – стандартные ошибки. Критерием значимости служило $p\text{-value} \leq 0,05$. Результаты выражены в единицах СИ, соответствующих стандартам ВОЗ и СЭВ 1062-78.

Параметры острой токсичности (LD50) анализировали методом пробит-регрессии с проверкой линейности, параллелизма дозозависимых кривых и равенства дисперсий. Применение экспериментальных, клинических и статистических методов, включая t-критерий и пробит-анализ, позволило достичь целей исследования.

Стоит отметить, что в совокупности все методы и результаты исследований с использованием статистической обработки данных решают все установленные задачи и позволяют достичь заявленной цели.

2.2. Результаты исследований и их анализ

2.2.1. Модификация остеопластического покрытия для стимулирования образования костной ткани

3,5 г полилактида растворяли в 100 мл хлороформа при температуре 22°C, непрерывно перемешивая, с использованием магнитной мешалки. Образовавшуюся прозрачную вязкую суспензию дополняли последовательным внесением 1,0 г метилурацила, 1,0 г гидроксиапатита и 0,05 г амоксициллина. Каждый компонент добавляли порциями по 200 мг с интервалом 20 минут (всего 5 добавлений). Затем вводили концентрат стабилизированных наночастиц селена (nSe) размером 1–2 нм.

Концентрацию наночастиц селена в растворе доводили до 100 мг/мл. Указанное значение выбрано для предотвращения агрегации частиц и выпадения осадка, наблюдаемых при превышении концентрации. Модифицированное 3,5% биокомпозиционное покрытие имеет белый цвет (Рисунок 2).

Методика формирования покрытия предусматривала последовательное пятикратное погружение стерильных хирургических имплантатов (спиц) в рабочий раствор с экспозицией 10 секунд на каждое погружение и интервалами между циклами с продолжительностью 2 минуты. В результате данной процедуры на поверхности имплантатов формировалось гомогенное покрытие толщиной 1,0-1,5 мкм (Д.А. Артемьев, В.С. Клоков, 2022).

Для сушки обработанных образцов применяли два альтернативных метода. При стандартном методе зафиксированные в штативе имплантаты подвергали естественной сушке при температуре 22°C в течение 24-48 часов.



Рисунок 2 – Модифицированное наночастицами селена nSe покрытие

Альтернативный метод включал проведение однократной лиофильной сушки в условиях вакуума ($5 \cdot 10^{-1}$ Па) при температуре 3-5°C с экспозицией 30 минут с последующей термической стерилизацией в сухожаровом шкафу.

2.2.2. Общетоксические исследования модифицированного покрытия

Оценка острой токсичности

Целью данных исследований является оценка острой токсичности модифицированного наночастицами селена (nSe) остеопластического биоконпозиционного покрытия для имплантов на лабораторных животных (мыши).

Объектом исследования являлось модифицированное наночастицами селена остеопластическое биоконпозиционное покрытие для имплантов.

Исследование острой токсичности входит в группу доклинических исследований и позволяет определить степень безопасности модифицированного покрытия.

Дизайн исследования и его осуществление предписаны целью диссертационной работы и регламентируются стандартами ОФС.1.2.4.0004.15 Аномальная токсичность (ГФ XII, ч.1, ОФС 42-0060-07) и ГОСТ 32644-2014. (таблица 1).

Таблица 1 – Дизайн опыта по острой токсичности

Показатель	Опытная группа №1	Опытная группа №2	Опытная группа №3	Опытная группа №4	Контрольная группа
Вид	Мыши				
Кол-во голов	10	10	10	10	10
Материал	Модифицированное nSe покрытие (исследуемое покрытие)				NaCl 0,9% (контроль)
Кратность введения	Однократно				
Доза, мл/голова	0,1-0,5				0,5
Доза, мг/кг	2000	3000	3500	4000	

Исследования проводились согласно регламентирующим стандартам ОФС.1.2.4.0004.15 Аномальная токсичность (ГФ XII, ч.1, ОФС 42-0060-07) и ГОСТ 32644-2014.

До начала проведения доклинических исследований животных, участвующих в эксперименте, не кормили и не поили, проводили их контрольное взвешивание, после чего распределяли по группам.

Исследование проводили на мышах инбредной линии (BALB/CJLac) 2-3 месяцев с живой массой 20-25 грамм, количество животных составляло 40 голов в опытной группе и 10 голов в контрольной. Животных распределяли по группам согласно методу «Случайных чисел» ключевым фактором служила масса тела, согласно регламентирующим стандартам разница в массе тела животных внутри группы составляла не более 10%. Для взвешивания животных использовались весы PIONEER PA (OHAUS).

Согласно литературным данным, соединения, входящие в состав модифицированного nSe покрытия, обладают низкой токсичностью, исходя из этого, стартовая доза для исследования острой токсичности была 2000 мг/кг.

Исследования проводились с использованием доз 2000, 3000, 3500 и 4000 мг/кг по лекарственной форме (ЛФ).

Для удобства введения исследуемого модифицированного покрытия его измельчали до состояния крошки, из которой готовили 10% суспензию с добавлением 1% раствора крахмала.

Животным контрольной группы при помощи желудочного зонда вводили NaCl 0,9% в аналогичном объёме. После введение физиологического раствора мышам контрольной группы не отмечалось никаких негативных эффектов.

Доза исследуемого вещества в 3500 и 4000 мг/кг имеют объём превышающий максимальный для введения мышам, в связи этим данные дозы вводили дробно с интервалом 4 часа.

Критерием оценки острой токсичности была гибель животных и появление клинических признаков отравления у лабораторных животных.

С первого дня исследования и на протяжении 14 дней проводился систематический мониторинг физиологического состояния экспериментальных животных. В ходе наблюдений оценивался комплекс физиологических и поведенческих параметров.

Измерение массы тела животных обеих групп производили до введения исследуемых веществ, а также в первый день исследования, на 7-е сутки эксперимента и через 14 дней после введения, результаты регистрировались и сравнивались в процентном соотношении с контрольным взвешиванием до начала исследования.

Через 14 суток после внутрижелудочного введения исследуемых веществ, под эфирной анестезией, мышам производили эвтаназию путём транслокации шейных позвонков. Осуществляли вскрытие животных с оценкой пищеварительной, гепатобилиарной и выделительной систем, а также поджелудочной железы. Для определения органа-мишени при интоксикации производили взвешивание органов (сердце, печень, почки, селезенка) с определением массовых коэффициентов.

Результаты проведённого исследования изложены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты исследования острой токсичности после однократного внутрижелудочного введения, модифицированного наночастицами селена покрытия белым инбредным мышам

Вид	Кол-во животных	Доза мг/кг	Число летальных исходов в зависимости от дозы согласно дням														Итог
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
Мыши	10 голов	2000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%
	10 голов	3000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%
	10 голов	3500	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20%
	10 голов	4000	1	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	40%

Результаты исследования острой токсичности показали, что пероральное введение 10% суспензии исследуемого покрытия в дозе 3000 мг/кг не вызывало летальных исходов, однако сопровождалось выраженными клиническими проявлениями токсического действия. У экспериментальных животных отмечалось угнетение общего состояния, снижение реакции на внешние раздражители и ухудшение качества шерстного покрова. Указанные симптомы полностью самостоятельно купировались в течение 12 часов после введения препарата.

Дозы 3500 и 4000 мг/кг характеризовались токсической реакцией, проявляющейся стойким угнетением центральной нервной системы с развитием

судорожного синдрома, полным отказом от корма (до 72 часов) и полидипсией. В данных группах зарегистрированы первые случаи летального исхода, которые развивались в течение 72 часов после введения суспензии.

Животные контрольной группы на всём протяжении исследования не проявляли никаких клинических признаков интоксикации.

Данные исследования прироста массы тела у экспериментальных животных после однократного внутрижелудочного введения, модифицированного nSe покрытия изложены в таблице 3.

В ходе исследования динамики изменения массы тела, при однократном внутрижелудочном введении доз модифицированного nSe покрытия мышам, отмечается прирост массы тела за 14 дней на 1,3; 1,1; 0,35 грамм соответственно дозам 2000; 3000; 3500 мг/кг. При однократном внутрижелудочном введении покрытия в дозе 4000 мг/кг отмечается отрицательный прирост массы тела (-1.20 гр.), что в среднем меньше на 5% исходных данных.

Таблица 3 – Динамика прироста массы тела у инбредных мышей после однократного внутрижелудочного введения покрытия в опытной (4n=10) и контрольной (n=10) группах

Доза, мг/кг / мл/кг	Масса (г) согласно суткам после введения				Общий прирост	% от изначальной массы тела
	0	1	7	14		
модифицированное наночастицами селена покрытие для мелких непродуктивных животных						
2000	21,50±0,20	21,60±0,25	22,10±0,30	22,80±0,18	1,30±0,03	106,0±2,50
3000	22,80±0,22	22,85±0,24	23,20±0,28	23,90±0,25	1,10±0,02	104,8±3,10
3500	23,40±0,18	23,45±0,20	23,60±0,22	23,75±0,30	0,35±0,01	101,5±1,80
4000	24,10±0,25	24,00±0,27	23,50±0,29	22,90±0,35	-1,20±0,03	95,0±4,20
NaCl 0,9%						
0,5	22,30±0,21	22,48±0,23	23,72±0,19	25,38±0,24	3,08±0,03	113,8±3,20
*Различие по данному показателю статистически достоверно между опытной и контрольной группами (P ≤ 0,05 при t критическом 2,26)						

Одним из ключевых этапов изучения токсических свойств является исследования коэффициентов внутренних органов мышей (И.А. Луговик, 2021), в данном эксперименте через 14 суток, после однократного внутрижелудочного введения (таблица 4).

Вовремя некропсии павших животных регистрировали увеличение печени с явлением инъекции сосудов, спленомегалию, признаки отёка головного мозга, кроме того при исследовании легочной системы отмечали бордовый и синюшный оттенки с тестоватой структурой и кровенаполненные кровеносные сосуды.

При исследовании выделительной системы регистрировали изменения структуры почек, характеризующиеся увеличением их объёма, гиперемией коркового слоя, а также кровоизлияниями.

Результаты морфометрического анализа свидетельствуют об отсутствии существенного влияния модифицированного nSe-покрытия на массовые коэффициенты внутренних органов лабораторных мышей при внутрижелудочном введении 10% суспензии. Сравнительный анализ органных коэффициентов (отношение массы органа к массе тела) не выявил статистически значимых различий между животными опытной и контрольной групп.

Таблица 4 – Морфометрические показатели органов мышей на 14-е сутки после однократного внутрижелудочного введения

Доза, мг/кг	Вес мыши	Печень		Почки	
		масса	коэф,	масса	коэф,
модифицированное наночастицами селена покрытие для мелких непродуктивных животных					
2000	22,80±0,18	1,25±0,08	0,055	0,33±0,003	0,014
3000	23,90±0,25	1,40±0,10	0,059	0,35±0,003	0,015
3500	23,75±0,30	1,30±0,15	0,055	0,34±0,002	0,014
4000	22,90±0,35	1,15±0,12	0,050	0,27±0,003	0,012
Доза, мг/кг	Вес мыши	Селезенка		Сердце	
		масса	коэф,	масса	коэф,
модифицированное наночастицами селена покрытие для мелких непродуктивных животных					
2000	22,80±0,18	0,17±0,07	0,007	0,14±0,015	0,006
3000	23,90±0,25	0,20±0,05	0,008	0,15±0,005	0,006
3500	23,75±0,30	0,18±0,03	0,008	0,16±0,016	0,007
4000	22,90±0,35	0,24±0,02	0,010	0,12±0,015	0,005
NaCl 0,9%					
Доза мл/кг	Вес мыши	Печень		Почки	
		масса	коэф,	масса	коэф,
0,5	25,38±0,24	1,25±0,03	0,049	0,350±0,002	0,014
		Селезенка		Сердце	
		масса	коэф,	масса	коэф,
		0,10±0,04	0,0039	0,135±0,014	0,0053

Обобщая вышеизложенные результаты исследования общетоксических свойств, при внутрижелудочном введении мышам модифицированного покрытия, можно заключить следующее: 3000 мг/кг следует рассматривать как максимально переносимую дозу, а дозы в диапазоне 3500-4000 мг/кг – в качестве летальных.

Результаты исследования токсикологических свойств покрытия для лабораторных мышей приводятся в таблице 5.

Таблица 5 – Характеристики острой токсичности модифицированного наночастицами селена покрытия (Логнормальный закон распределения)

Материал	LD16 (мг/кг)	LD50 (мг/кг)	LD 84 (мг/кг)
Модифицированное наночастицами селена покрытие	3532,59±687,57	4101,91±1460,44	4762,98±4370,33

При пероральном введении белым инбредным мышам среднесмертельная доза для модифицированного наночастицами селена покрытия равна 4101,91±1460,44мг/кг.

На основании полученных данных по оценке пероральной токсичности модифицированного остеопластического биоконпозиционного покрытия установлен 3 класс опасности – вещества «Малотоксичные» с учётом ЛД50, рассчитанной по методу Финни (ГОСТ 12.1.007-76).

Оценка раздражающего действия модифицированного биосовместимого остеопластического покрытия на кожу

Цель исследования заключалась в оценке раздражающего действия, модифицированного наночастицами селена остеопластического покрытия для имплантатов методом накожного применения в течение 20 дней, а также в течение 14 дней после прекращения воздействия. В качестве подопытных животных использовались кролики породы Шиншилла.

Объектом изучения служило модифицированное биоконпозитное остеопластическое покрытие для имплантатов. Работа представляет собой доклиническое исследование безопасности покрытия, направленное на получение

детальных данных об его местно-раздражающих свойствах при потенциальном применении в остеосинтезе у мелких непродуктивных животных.

Дизайн эксперимента (Таблица 6), основанный на стандартных принципах оценки раздражающего действия лекарственных средств на лабораторных животных, был разработан в соответствии с поставленными задачами. Кролики выбраны в качестве модели не случайно: они признаны референсными организмами для доклинических исследований токсичности фармацевтических материалов. Регламентирующие документы рекомендуют их, как наиболее воспроизводимую тест-систему, для подобных экспериментов.

Таблица 6 – Дизайн опыта по местно-раздражающим свойствам

Вид животного	Количество голов	Исследуемый материал	Область экспозиции	Доза мл/кг Объём мл/животное	Кратность применения
Кролики	10	nSe покрытие	Правый бок	1 мл/кг	1 раз в день на 4 часа, 20 дней
	10	NaCl 0,9%	Левый бок	1-5мл/животное	

Исследование проводили на 20 кроликах породы Шиншилла возрастом 9 месяцев с живой массой $3,0 \pm 0,2$ кг, количество животных в группе составляло 10 голов. Животных распределяли по группам согласно методу «Случайных чисел» ключевым фактором служила масса тела, согласно регламентирующим стандартам разница в массе тела животных внутри группы составляла не более 10%. Для взвешивания животных использовались весы PIONEER PA (OHAUS).

Животные были идентифицированы и промаркированы с помощью пикриновой кислоты. Клетки также маркировались с указанием названия опыта, временных рамок, количества животных и ответственного лица.

Исследования проводились согласно регламентирующим стандартам ОФС.1.2.4.0004.15 Аномальная токсичность (ГФ XII, ч.1, ОФС 42-0060-07) и ГОСТ 32644-2014.

Подготовка к исследованию включала формирование на спине, по левой и правой стороне, зон свободных от шерсти размером 6,0 на 6,0 см. Разделение этих зон осуществлялось волосяным покровом шириной 2 см.

На правую сторону на 4 часа наносили 10% суспензию, приготовленную из модифицированного pSe покрытия в объёме 1 мл/кг, на левую сторону наносили 0,9% NaCl в аналогичном объёме. Для предотвращения слизывания исследуемых веществ на кроликов надевали защитный воротник. Повторные нанесения проводили ежедневно в течение 20 дней. С первого дня опыта и на протяжении 14 дней после за животными устанавливали наблюдение.

Оценку покраснений проводили согласно бальной шкале, где 0 - отсутствие эритемы, 4 - резкая гиперемия с ярко выраженной демаркационной линией.

Помимо того оценивали степень эритемы и отёка, согласно регламентирующей классификации (ГОСТ ISO 10993-10–2011), учитывая временные интервалы.

Оценку вышеупомянутых клинических признаков производили спустя час после смыва аппликации и перед ее следующим нанесением. Затем после крайнего нанесения контроль производили на 2, 3 и 4-й день.

Степень выраженности эритемы оценивалась от 0 (отсутствие симптомов) до 4 баллов (гиперемизированная эритема со струпом), где 1 балл соответствовал заметному покраснению, 2 - хорошо различимому покраснению, 3 - интенсивной гиперемии. Оценка отёка проводилась аналогично по 5-бальной шкале: от 0 (отсутствие) до 4 баллов (выраженный отёк более 1,5 мм с возможной экссудацией), с промежуточными градациями для слабого отёка (1 балл), чётко ограниченного отёка до 1 мм (2 балла) и около 1 мм (3 балла).

Анализ результатов исследования проводили с использованием индекса суммарного раздражения, который рассчитывался индивидуально для каждого организма. Этот показатель определялся как сумма баллов, отражающих степень раздражения (эритема, отек), в определённые временные интервалы.

Общий индекс суммарного раздражения рассчитывали путём определения среднеарифметического значения баллов кожных реакций всех экспериментальных животных. Значения индекса анализировали в соответствии с критериями, указанными в таблице 7.

Таблица 7 – Степень реакции раздражения у кроликов (ГОСТ ISO 10993-10–2011)

Кожная реакция	Баллы
Малозначимая	0-0,4
Слабая	0,5-2,0
Средняя	2,1-5,0
Сильная	5,1-8,0

Результаты данного исследования способствуют выявлению возможности формирования неаллергического контактного дерматита исходя из дозировки модифицированного (nSe) покрытия.

Результаты вышеизложенного исследования представлены в таблице 8.

Проведённое исследование показало, что у большинства подопытных животных через час после смыва аппликаций наблюдалась слабовыраженная гиперемия кожи, которая полностью исчезала в течение 3,5–4,5 часов. К моменту повторного нанесения аппликаций никаких дерматологических симптомов зафиксировано не было.

Таблица 8 – Индивидуальные результаты изучения раздражающего действия модифицированного nSe покрытия на кожу кроликов

№ кролика	Кол-во нанесенного препарата, мл	Индекс суммарного раздражения
	Модифицированное nSe покрытие	
1	2,9	0,33
2	2,85	0,31
3	2,8	0,35
4	3,0	0,35
5	2,85	0,34
6	2,9	0,33
7	2,8	0,31
8	2,95	0,35
9	3,0	0,35
10	3,0	0,34
M±m	2,9±0,15	0,33±0,01

Согласно требованиям стандарта, ГОСТ ISO 10993-10–2011, модифицированное nSe покрытие вызывает минимальную реакцию со стороны

кожных покровов лабораторных животных, что подтверждает его низкий раздражающий потенциал.

Оценка раздражающего действия модифицированного nSe покрытия для имплантов на слизистую оболочку

Цель исследования заключалась в оценке раздражающего эффекта модифицированного (nSe) покрытия для имплантатов на слизистую оболочку глазной орбиты кроликов.

Объектом исследования выступало модифицированное nSe остеопластическое биоконпозиционное покрытие, предназначенное для имплантатов.

Исследование проводили на 20 кроликах породы Шиншилла возрастом 7-8 месяцев с живой массой $3,2 \pm 0,1$ кг, количество животных в группе составляло 10 голов. Животных распределяли по группам согласно методу «Случайных чисел», где ключевым фактором служила масса тела. Согласно регламентирующим стандартам, разница в массе тела животных внутри группы составляла не более 10%. Для взвешивания животных использовались весы PIONEER PA (OHAUS).

Дизайн исследования раздражающего действия представлен в таблице 9. Животным проводили инстилляцию: в правый глаз по 1 капле 10 % суспензии, приготовленной из модифицированного nSe покрытия, а в левый глаз по 1 капле NaCl 0,9%. Для этого, при помощи пипетки вводили по 1 капле суспензии и NaCl 0,9% под верхнее веко справа и слева соответственно.

Таблица 9 – Дизайн опыта по местно-раздражающим свойствам

Вид животного	Количество голов	Исследуемый материал	Место инстилляций	Объём мл/животное	Кратность применения
Кролики	10	nSe покрытие	Правый глаз	0,02-0,06	Инстиляция в конъюнктивный мешок однократно
	10	NaCl 0,9%	Левый глаз		

За сутки до проведения исследований все задействованные в опыте кролики прошли полный офтальмологический осмотр для исключения наличия заболеваний глаз, способных повлиять на результаты исследования. В опыт были

включены только клинически здоровые животные, которые ранее в опытах не участвовали.

После инстилляций подготовленных веществ, за животными осуществляли мониторинг в течение 96 часов, контрольные показатели регистрировали через 4 часа, и через 1, 2, 3 и 4 –х суток после инстилляций.

Анализ результатов исследования (в соответствии с классификацией А. Majda, K. Chrusaieleska, 1973) осуществляли по бальной системе, исходя из суммарного бала. Гиперемия конъюнктивы и васкуляризация роговицы оценивалась по трехбальной системе: 1 балл присваивался при инъекции сосудов, 2 балла - когда некоторые сосуды становились трудно различимыми, 3 балла соответствовали диффузной глубокой гиперемии.

Отек век классифицировался по 4-х бальной шкале: слабый отек оценивался в 1 балл, выраженный отек с частичным эктропионом (выворотом) – в 2 балла, отек, закрывающий глаз наполовину – в 3 балла, а отек, закрывающий глаз более чем наполовину – в 4 балла.

Характер выделений из глаз определялся следующим образом: минимальное количество выделений в медиальном углу глаза соответствовало 1 баллу, влажная кожа век – 2 баллам, наличие эпифоры (слезной дорожки) – 3 баллам.

Баллы, полученные при оценке поражения глаз, суммировали для расчёта среднего суммарного балла.

Заключение о степени раздражающего действия веществ на слизистую оболочку глаза формировали согласно данным представленным в таблице 10.

Таблица 10 – Степень реакции раздражающего воздействия на слизистую оболочку у кроликов согласно классификации А. Majda, K. Chrusaieleska, 1973

Степень раздражающего воздействия на слизистую оболочку глаза	Баллы
Норма	0
Незначительный раздражающий эффект	1-3
Умеренно раздражающий эффект	4-6
Средне раздражающий эффект	7-8
Сильно раздражающий эффект	9-10

Результаты оценки раздражающего действия модифицированного nSe покрытия на слизистую оболочку представлены в таблице 11.

Таблица 11 – Результаты оценки раздражающего действия модифицированного nSe покрытия на слизистую оболочку кроликов

Показатели	Средний суммарный балл
Гиперемия конъюнктивы	4,4±0,55
Отек век	2,1±1,81
Выделения	2,3±1,43
Степень выраженности эффекта	Слабая

Исследование выявило, что сразу после введения суспензии модифицированного nSe остеопластического биокомпозиционного покрытия у подопытных животных наблюдалось беспокойство, сопровождающееся признаками воспалительной реакции: жжением, сужением глазной щели, гиперемией конъюнктивы и склеры, а также отёком с незначительным экссудатом в уголках глаз. Все перечисленные симптомы полностью исчезали самостоятельно в течение 24–48 часов.

Полученные данные свидетельствуют о слабовыраженном раздражающем действии модифицированного nSe покрытия на слизистую оболочку.

Оценка аллергизирующего действия модифицированного nSe покрытия для имплантов

Цель исследования заключалась в оценке аллергизирующего потенциала модифицированного nSe покрытия для имплантатов с использованием метода закрытых накожных аппликаций на кроликах.

Объектом изучения выступало модифицированное nSe покрытие, предназначенное для применения мелким домашним животным.

Дизайн исследования соответствует требованиям стандарта ГОСТ Р ИСО 10993-10-2009 и представлен в таблице 12. Исследование проводили на 20 кроликах породы Шиншилла возрастом 9 месяцев с живой массой 3.0±0,2 кг. Животных распределяли на две группы по 10 голов в каждой согласно методу «Случайных чисел» ключевым фактором служила масса тела, согласно

регламентирующим стандартам, разница в массе тела животных внутри группы составляла не более 10%. Для взвешивания животных использовались весы PIONEER PA (OHAUS).

Таблица 12 – Дизайн опыта оценки аллергизирующего действия модифицированного остеопластического покрытия на кроликах

Вид и количество животных	Материал	Место аппликации	Объем раствора, мл/животное	Кратность и режим экспозиции
Кролики; n=10	Модиф. nSe покрытие	Бок с правой стороны	0,4-0,6	Накожно по 6 часов на протяжении 3 дней в неделю в течение 3 недель
Кролики; n=10	NaCl 0,9%	Бок с правой стороны	0,4-0,6	Накожно по 6 часов на протяжении 3 дней в неделю в течение 3 недель

За двое суток до процедуры у кроликов удаляли шерсть в верхней трети правой стороны спины. Гигроскопическую марлевую салфетку пропитывали 10% суспензией модифицированного покрытия и фиксировали её на подготовленном участке кожи с помощью акклюзионной повязки на 6 часов.

Процедуру повторяли каждые 72 часа в течение трёх недель. В контрольной группе для аппликации использовали 0,9% раствор NaCl. Через две недели после последней аппликации шерсть снова удаляли, наносили свежую суспензию и через 6 часов снимали повязку. Реакции немедленного и замедленного типа оценивали через сутки после провокационного воздействия: участки кожи промывали тёплой водой, высушивали и отправляли обратно в клеточное содержание. Повторный осмотр осуществлён спустя 48 часов. Оценку клинического состояния кожи формировали согласно таблице 13.

Таблица 13 – Классификация кожной реакции по Magnusson и Kligman

Симптомы ответной реакции	Баллы
Норма (отсутствие каких-либо симптомов)	0
Дискретно (слабозаметное покраснение кожи)	1
Умеренная эритема (интенсивное покраснение кожи)	2
Эритема с отеком	3

Результаты исследования представлены в таблице 14. Результаты исследования показали, что через 24 часа после провокационной пробы клинические признаки сенсибилизации, вызванные модифицированным nSe покрытием, не отличались от показателей контрольной группы.

Таблица 14 – Результаты сенсибилизации модифицированного nSe покрытия на кроликах

№ кролика	Модифицированное 3,5% покрытие		Контрольная группа	
	24 часа	48 часов	24 часа	48 часов
1	0	0	0	0
2	0	0	0	0
3	0	0	0	0
4	0	0	0	0
5	0	0	0	0
M±m	0±0	0±0	0±0	0±0

В соответствии с требованиями стандарта ГОСТ ISO 10993-10–2011, модифицированное nSe покрытие не демонстрирует аллергизирующих свойств, что подтверждает его безопасность в контексте развития аллергических реакций.

2.2.3. Оценка остеорепаративного воздействия модифицированного покрытия у целевых животных-компаньонов

Оценку остеорепаративного воздействия модифицированного покрытия осуществляли на 54 собаках с нарушениями анатомической целостности костей (плечевая, бедренная, голень), проходивших лечение в условиях ветеринарной клиники.

Животные были распределены на группы по 18 животных в каждой. Распределение в группу осуществлялось не одномоментно, а по мере обращения в клинику.

В первую опытную группу входили 18 пациентов, которым осуществлялось лечение с использованием модифицированного покрытия для имплантов наночастицами селена (nSe).

Во вторую опытную группу входили 18 пациентов, которым осуществлялось лечение с использованием оригинального покрытия для имплантов (патент № 2817049).

В контрольную группу вошли 18 пациентов, получивших лечение аналогичными методами остеосинтеза, без использования биопокрытий.

Ортопедическая помощь каждому пациенту осуществлялась в течение первых двух суток после получения травмы (Рисунок 3, 4).



Рисунок 3 – Проведение комбинированного остеосинтеза с применением имплантов с модифицированным покрытием наночастицами селена (nSe)

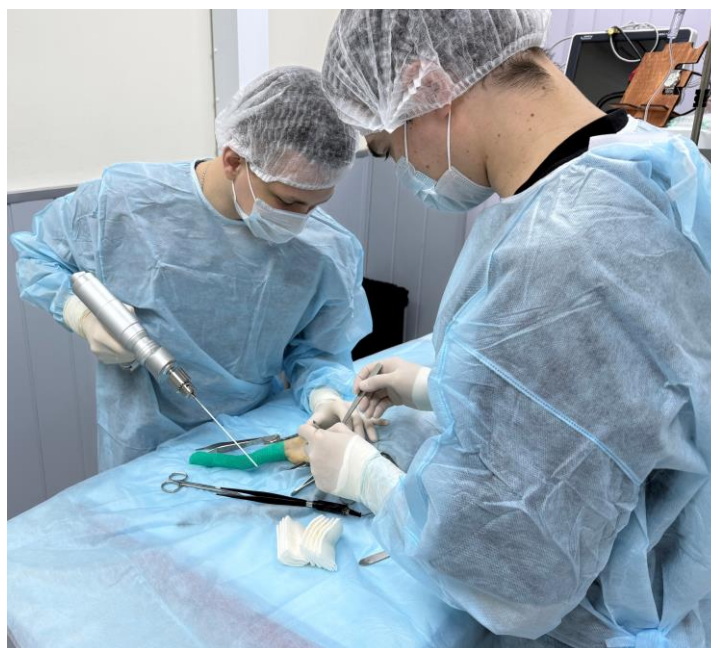


Рисунок 4 – Операционная бригада за работой по иммобилизации отломков бедренной кости.

Данная статистика определена видом и полом животного, породной составляющей (карликовые породы собак), возрастным показателем (от 1 года до 5 лет), массой (3,0-6,0 кг), видом переломов (АО VET 12-A2 / 12-A3; 32-A2 / 32-A3; 42-A2 / 42-A3), способом остеосинтеза (комбинированный остеосинтез: интрамедуллярный + аппарат внешней фиксации) (Таблица 15, 16).

Таблица 15 – Распределение животных по установленным характеристикам

Вид	Количество голов	Порода	Пол	Возраст	Масса
Собаки	54	Йоркширский терьер; Чихуахуа; Малый шпиц; Русский той	Кобели; суки	1-5 лет	3,0-6,0 кг

Таблица 16 – Распределение животных по установленным характеристикам

Вид перелома по классификации АО VET:	Вид остеосинтеза	I опытная группа (n=18)	II опытная группа (n=18)	Контрольная группа (n=18)
12-A2 / 12-A3	Комбинированный (интрамедуллярный + аппарат внешней фиксации)	4	6	6
32-A2 / 32-A3;		4	8	7
42-A2 / 42-A3		10	4	5

При этом, согласно таблице 17, одним из факторов в нарушении целостности костей является кататравма, где в первой опытной группе он составил 44,4%, во второй 33,3% и в контроле 44,4%.

Таблица 17 – Этиология повреждений костной структуры у пациентов опытных и контрольной групп

Этиология повреждения	Группы						Итого	%
	I опытная	%	II опытная	%	Контрольная	%		
Кататравма	- (12-A2)	-	1 (12-A2)	5,6	2 (12-A2)	11,05	3	5,6
	- (12-A3)	-	1 (12-A3)	5,6	1 (12-A3)	5,6	2	3,8
	- (32-A2)	-	2 (32-A2)	11,1	2 (32-A2)	11,05	4	7,4
	1 (32-A3)	5,6	2 (32-A3)	11,1	1 (32-A3)	5,6	4	7,4
	4 (42-A2)	22,2	- (42-A2)	-	1 (42-A2)	5,6	5	9,2
	3 (42-A3)	16,6	1 (42-A3)	5,6	1 (42-A3)	5,6	5	9,2
Бытовой	3 (12-A2)	16,6	1 (12-A2)	5,6	1 (12-A2)	5,6	5	9,2
	1 (12-A3)	5,6	3 (12-A3)	16,55	2 (12-A3)	11,05	6	11,2
	1 (32-A2)	5,6	3 (32-A2)	16,55	1 (32-A2)	5,6	5	9,2
	2 (32-A3)	11,1	1 (32-A3)	5,6	3 (32-A3)	16,6	6	11,2
	2 (42-A2)	11,1	2 (42-A2)	11,1	1 (42-A2)	5,6	5	9,2
	1 (42-A3)	5,6	1 (42-A3)	5,6	2 (42-A3)	11,05	4	7,4
Итого	18	100	18	100	18	100	54	100

Согласно анамнезу, определен и бытовой травматизм (удары, зажатие дверью), посредством чего животные получали травмы. В первой опытной группе он составил 55,6%, во второй 66,7% и в контроле 55,6%.

2.2.3.1. Гемато-биохимические показатели крови при использовании модифицированного покрытия у целевых животных-компаньонов

Данное исследование проведено с целью анализа гематологических показателей крови целевых животных при использовании модифицированного биосовместимого остеопластического покрытия, а также в сравнительном аспекте. Полученные данные объективно дают оценку работоспособности выделительной, гепатобилиарной и иммунной систем для подтверждения отсутствия нефро-, гепатотоксичности, нежелательных реакций замедленного и немедленного типа, а также угнетения гемопоэза.

Данное исследование методически осуществлялось в соответствии с пунктом 3.1.

Объектом исследования являлись 54 собаки (карликовые породы), которым осуществлялась травматологическая помощь за период 2023-2025 годы. Собаки были объединены по принципу пар-аналогов в три группы по 18 голов в каждой ($n=18$), одна контрольная и две опытные группы.

Первая опытная группа характеризуется тем, что остеосинтез (плечевой, бедренной, большеберцовой кости) осуществлялся с учётом использования модифицированного покрытия (nSe).

Вторая опытная группа определена тем, что данная процедура осуществлялась с учётом использования оригинального покрытия (патент №2817049).

В контрольной группе животным оказывалось лечение без использования покрытий.

Отбор проб периферической крови у пациентов производили до оперативных вмешательств и через 3, 14 и 28 дней после операции в объеме 3,0 мл.

Клинический осмотр и наблюдения владельцев животных контрольной и опытных групп не обнаружил значительных отличий воспалительного процесса в местах оперативного вмешательства, а также в области контакта «металл-кость». В течение первых суток у животных наблюдалось снижение аппетита. Вторые сутки показали выраженные симптомы воспалительного процесса: отёк, гиперемия, болевой синдром, повышение местной температуры, движения и нагрузка оперированных конечностей снижена, но присутствует в полном объеме. Пятые сутки показали снижение воспалительных реакций во всех группах. Седьмые и последующие сутки эксперимента показали, что все группы животных характеризовались отсутствием воспалительных процессов, также болевой синдром, смещение или ротация в оперируемой зоне не наблюдались, при этом аппетит, подвижность и активность – в норме.

Клинический и биохимический анализ крови животных данных групп, представленный в таблицах 18 и 19, дает объективную оценку работоспособности гепатобилиарной и выделительной систем, наличие воспалительного процесса, бактериальной обсеменённости, анемии, воздействия на лейко- и эритропоэз, а также процесс фагоцитоза (Д.А. Артемьев, В.С. Клоков, 2022).

Таблица 18 – Динамика показателей клинического анализа крови животных при применении имплантов без покрытия, а также с модифицированным и оригинальным покрытием (Зn=18, М±m)

Показатель	Нормы	Опытная группа №1 (модифицированное покрытие наночастицами селена, n=18)				Опытная группа №2 (оригинальное покрытие, n=18)				Контрольная группа (без применения покрытия, n=18)			
		До операции	3 сутки	14 сутки	28 сутки	До операции	3 сутки	14 сутки	28 сутки	До операции	3 сутки	14 сутки	28 сутки
WBC, $\times 10^9/L$	6,0–17,0	27,2±1,4	36,7±1,6*	20,2±1,8*	12,9±0,8*	26,3±1,5	35,9±1,2*	19,9±1,5*	13,6±0,9	26,8±1,9	29,5±1,7*	35,7±2,3*	19,8±2,3*
LYM, $\times 10^9/L$	0,8-5,1	9,6±0,6	8,8±0,3	4,8±0,2	2,7±0,1	9,5±0,5	8,8±0,7*	4,0±0,1*	3,2±0,3	8,9±0,3	10,7±0,3*	7,8±0,1	4,3±0,3
MID, $\times 10^9/L$	0-1,8	0,8±0,04	1,1±0,05	0,7±0,04	0,7±0,02	1,0±0,03	1,0±0,04*	1,0±0,05*	0,8±0,02	0,9±0,02	1,0±0,04*	1,3±0,02	0,8±0,03
GRA, $\times 10^9/L$	4,0-12,6	16,8±0,9	27,8±1,7	14,7±0,2	9,5±0,3	15,8±1,2	26,1±1,3	14,9±0,4*	9,6±1,1*	17,0±0,5	17,8±1,1	26,6±1,7	14,7±0,2
LYM, %	12,0-30,0	35,2±1,7	23,7±2,3	23,6±1,3	21,1±1,2	35,8±2,7	24,5±1,2	20,2±1,3	23,1±2,1	33,8±2,1	36,4±2,3	22,0±1,8	21,7±1,8
MID, %	2,0-9,0	3,2±0,2	3,1±0,1	3,5±0,2	5,5±0,3	3,4±0,2	3,0±0,1	5,3±0,2	5,8±0,4	3,7±0,1	3,5±0,1	3,7±0,2	4,1±0,3
GRA, %	60,0-83,0	61,6±5,3	73,2±5,4	72,9±2,9	73,4±3,7	60,7±4,3	72,5±3,9	74,5±3,4	71,1±2,9	62,5±3,2	60,1±4,2	74,3±3,5	74,2±3,3
RBC, $\times 10^{12}/L$	5,5-8,5	6,83±0,2	5,76±0,1	5,64±0,5	6,78±0,2	6,52±0,4	6,84±0,1	8,1±0,5*	6,58±0,3	6,28±0,2	6,79±0,6	6,45±0,3	7,32±0,2
HGB, g/l	110,0-190,0	141,5±9,3	142,3±10,5	122,7±7,8	137,8±9,3	139,2±11,8	151,7±11,2	161,1±10,9*	178,2±9,9	139,1±10,7	141,9±9,6	147,4±10,3*	153,4±9,2
MCHC, g/l	300,0-380,0	372,0±16,5	379,0±17,8	390,0±19,5	385,0±21,2	382,0±20,2	379,0±23,2	391,0±16,3	388,0±18,3*	390,0±13,9	385,0±24,3	390,0±22,5	388,0±19,2
MCH, pg	20,0-25,0	22,1±1,4	21,5±2,0	21,8±1,2	21,5±1,5	23,6±1,6	22,5±1,2	24,1±1,3	21,1±2,0	24,2±1,0	21,6±1,2	20,0±1,5	21,4±1,3
MCV, fL	62,0-72,0	60,2±4,5	60,0±2,5	62,3±1,7	68,1±2,5	62,3±1,5	69,2±3,3	62,9±2,5	68,3±2,1	65,2±6,0	63,6±5,2	64,5±1,6	64,2±3,9
RDW-CV, %	11,0-15,5	12,3±0,4	12,4±0,9	12,2±0,5	13,4±1,0	12,9±1,1	13,2±0,3	13,9±0,4	13,7±1,3	14,1±0,5	14,8±0,8	14,3±0,4	13,9±1,0
RDW-SD, fL	35,0-56,0	36,3±1,2	35,9±2,1	36,2±2,9	41,2±2,6	49,1±2,2	511±3,3	40,8±2,1	41,2±3,2	36,2±3,4	45,3±2,6	44,3±1,8	49,3±3,1
HCT, %	39,0-56,0	34,2±1,5	43,2±1,5	39,2±1,9	47,1±3,1	43,1±4,2	56,1±2,1	41,7±4,0*	51,9±5,0	41,4±1,2	36,1±1,8	44,1±2,3*	53,1±3,4
PLT, $\times 10^9/L$	117,0-460,0	178,1±11,7	189,2±10,2	163,0±13,4	141,0±11,4	144,0±3,8	157,0±9,8	169,0±12,5	173,0±11,6	471,0±20,1	425,0±29,7	337,0±27,0	279,0±14,9
MPV, fL	7,0-12,9	10,2±0,9	10,1±0,3	11,2±1,0	10,4±0,5	11,3±1,0	8,2±0,2	10,2±0,4	11,1±0,3	9,4±0,3	9,9±0,2	10,4±0,1	11,2±0,4
PDW, fL	10,0-18,0	12,3±0,4	17,2±0,5	12,9±0,9	18,2±1,0	14,2±0,9	14,2±0,7	13,9±0,8	13,3±0,3	16,7±0,7	14,2±0,5	17,6±0,3	14,5±0,8
PCT, %	0,1-0,5	0,235±0,01	0,158±0,01	0,181±0,01	0,264±0,01	0,270±0,01	0,250±0,01	0,245±0,01	0,271±0,02	0,473±0,02	0,427±0,03	0,370±0,02	0,334±0,01
P-LCR, %	13,0-43,0	25,9±2,6	26,7±2,1	25,9±1,2	29,8±1,3	26,9±1,6	30,1±0,4	24,3±4,2	33,4±3,1	27,0±1,3	28,5±1,8	38,1±0,3	26,5±1,6

Примечание: * Различие по данному показателю статистически достоверно между опытной и контрольной группами на соответствующий день эксперимента ($P \leq 0,05$ при t критическом 2,78)

Таблица 19 – Динамика показателей биохимического анализа крови животных при применении имплантов без покрытия, а также с модифицированным и оригинальным покрытием (3n=18, M±m)

Показатель	Нормы	Опытная группа №1 (модифицированное покрытие наночастицами селена, n=18)				Опытная группа №2 (оригинальное покрытие, n=18)				Контрольная группа (без применения покрытия, n=18)			
		До операции	3 сутки	14 сутки	28 сутки	До операции	3 сутки	14 сутки	28 сутки	До операции	3 сутки	14 сутки	28 сутки
ALAT, Е/л	15,0-62,0	44,6±3,7	32,7±3,1	41,0±3,9	32,7±2,8	30,1±2,7	37,9±2,7	51,3±4,4*	54,1±5,2*	28,9±2,4	29,4±2,2	40,3±3,4	38,9±3,4*
ASAT, Е/л	15,0-42,0	38,0±2,3	25,7±2,1	31,9±3,0	27,2±2,4	26,0±1,9	30,0±2,7	37,5±2,9	32,3±2,9	29,2±1,9	24,8±1,1	38,1±2,2	35,6±2,6*
ALKP, Е/л	До 75,0	119,5±9,3	95,7±8,3	118,1±4,4	97,3±7,6	153,9±13,2	137,4±12,7*	93,0±8,9*	83,7±7,6	169,4±14,3	125,5±2,3*	89,2±6,2*	69,5±5,2*
TP, г/л	54,0-73,0	72,9±6,4	66,8±6,1	74,7±5,9	69,3±5,3	76,8±6,3	72,7±5,7	71,9±5,9	77,8±4,9	62,3±4,3	64,9±5,5	72,1±4,2	66,8±5,1
ALB, г/л	26,0-43,0	37,3±3,1	29,1±2,3	35,7±2,9	30,2±2,6	37,8±2,9	35,0±2,8	34,8±2,7	29,8±2,5	37,2±3,1	27,1±1,9	38,2±1,2	28,5±1,5
Glob, г/л	28,0-45,0	37,5±2,8	33,2±3,1	39,6±3,6	36,4±2,8	44,6±4,2	34,8±2,6	36,2±2,9	34,8±1,9	37,1±3,2	33,9±3,2	37,1±2,8	35,9±2,1
Urea, ммоль/л	6,5-10,5	8,8±0,8	7,2±0,6	9,4±0,8	6,7±0,4	9,5±0,7	7,2±0,3	9,3±0,8	6,7±0,3	7,9±0,6	7,0±0,5	10,2±0,7	6,6±3,6
Cre, мкмоль/л	62,0-106,0	96,7±7,8	80,1±6,4	90,7±8,5	83,1±6,7	101,6±9,3	94,7±8,2	82,1±6,4	73,1±6,3	83,1±4,9	75,7±4,7	74,9±4,6	78,2±4,2
TBil, ммоль/л	3,4-13,7	8,0±0,6	5,4±0,4	7,4±0,5	6,7±0,5	9,5±0,8	5,3±0,4	8,6±0,3	4,9±0,3	8,5±0,6	5,0±0,2	8,7±0,6	4,2±0,3
Chol, ммоль/л	2,9-7,5	3,4±0,1	2,9±0,2	3,1 ± 0,5	4,2±0,3	4,1±0,2	3,8±0,2	5,1±0,3	6,1±0,04	4,1±0,02	5,1±0,3	4,2±0,1	5,2±0,3
Glu, ммоль/л	4,3-6,7	5,4±0,3	5,3±0,3	6,6±0,5	5,9±0,4	5,7±0,3	3,7±0,2	5,2±0,2	4,8±0,2	6,2±0,4	4,7±0,2	6,3±0,2	4,4±0,3
GGTP, Е/л	До 6,9	5,5±0,4	3,1±0,2	5,5±0,4	3,3±0,25	5,3±0,4	3,10,5	5,2±0,3	4,2±0,3	6,0±0,3	3,1±0,2	5,9±0,4	4,2±0,3
Ca, ммоль/л	2,25-2,85	2,77±0,3	2,3±0,2	2,6±0,1	2,4±0,2	2,6±0,1	2,3±0,15	2,65±0,2	2,4±0,2	2,7±0,1	2,3±0,2	2,6±0,1	2,4±0,1
P, ммоль/л	1,06-2,05	1,5±0,2	1,4±0,08	1,9±0,15	1,6±0,05	1,70,15	1,3±0,08	1,9±0,09	1,2±0,06	1,9±0,15	1,39±0,2	1,9±0,1	1,3±0,15
Mg, ммоль/л	1,0-1,1	1,05±0,07	1,02±0,06	1,07±0,05	1,02±0,07	1,06±0,05	1,0±0,04	1,0±0,02	1,05±0,07	1,04±0,02	1,08±0,03	1,08±0,04	1,02±0,02
Na, ммоль/л	139,0-164,0	160,7±12,2	154,5±11,5	156,5±13,5	158,0±12,3	160,0±14,5	155,7±13,4	157,2±12,5	154,5±12,9	162,1±13,5	153,5±14,2	160,2±12,6	152,4±13,1
K, ммоль/л	4,4-6,1	5,2±0,3	4,6±0,4	5,7±0,3	4,9±0,37	5,0±0,4	4,9±0,2	5,0±0,3	5,4±0,4	6,0±0,2	4,9±0,45	5,7±0,3	4,6±0,4

Примечание: * Различие по данному показателю статистически достоверно между опытной и контрольной группами на соответствующий день эксперимента ($P \leq 0,05$ при t критическом 2,78)

Интерпретируя клинический анализ крови (таблица 18), стоит отметить, что лейкоцитоз, является индикатором наличия патологического, воспалительного, инфекционного процесса. По истечению трёх суток после оперативного вмешательства данный показатель повышен, в первой группе имел значение $36,7 \pm 1,6 \times 10^9/L$, во второй $35,9 \pm 1,2 \times 10^9/L$, в третьей $29,5 \pm 1,7 \times 10^9/L$. На пятнадцатые сутки данный показатель в первой группе составил $20,2 \pm 1,8 \times 10^9/L$, во второй $19,9 \pm 1,5 \times 10^9/L$, в третьей $35,7 \pm 2,3 \times 10^9/L$, что всё же выходит за рамки референсного значения. Однако, на 30 сутки после хирургического вмешательства в первой группе данный показатель составил $12,9 \pm 0,8 \times 10^9/L$ и во второй $13,6 \pm 0,9 \times 10^9/L$, что не выходит за референсные значения, тогда как в третьей группе $19,8 \pm 2,3 \times 10^9/L$ отмечался умеренный лейкоцитоз. Данный результат определён тем, что в опытных группах активируется усиленная продукция иммунокомпетентных клеток на ранних стадиях, а также антибактериальной защитой.

Показатель, отвечающий за наличие септического процесса и бактериальной обсемененности, является абсолютное содержание гранулоцитов (GRA). В первой группе данный показатель, спустя трех суток после оперативного вмешательства составлял $27,8 \pm 1,7 \times 10^9/L$, во второй $26,1 \pm 1,3 \times 10^9/L$, в третьей $17,8 \pm 1,1 \times 10^9/L$. На пятнадцатые сутки в первой группе составляло $14,7 \pm 0,2 \times 10^9/L$, во второй $14,9 \pm 0,4 \times 10^9/L$ и в третьей $26,6 \pm 1,7 \times 10^9/L$. На тридцатые сутки в первой группе данный показатель не выходил за референсные значение в первой $9,5 \pm 0,3 \times 10^9/L$ и во второй $9,6 \pm 1,1 \times 10^9/L$ группах. Третья группа характеризуется повышенным показателем ($14,7 \pm 0,2 \times 10^9/L$), однако определён вектор на его стабилизацию. Это говорит о положительном антибактериальном действии оригинального и модифицированного покрытия в сравнении с применением имплантов без покрытия.

Также важны показатели клинического анализа крови, такие как эритроциты (RBC), гемоглобин (HGB), гематокрит (HCT) %, тромбоциты (PLT) $\times 10^9/L$, отвечающие за обогащение кислородом макро и микроорганизма, заживление и регенерацию поврежденных тканей (тромбоцитарный фактор роста

PDGF) во всех группах, за весь период времени проведения эксперимента не выходили за референсные значения. Это говорит об отсутствии отрицательных воздействий на транспортировку кислорода, протекцию с атакующими макро и микроорганизм инфекциями (Д.А. Артемьев, В.С. Клоков, 2022).

Уровень общего билирубина, активность ALAT, ASAT, щелочной фосфатазы, коэффициент де Ритиса, концентрация холестерина, креатинина, мочевины и микроэлементов определяли для мониторинга цитологического, холестатического, нефротического процессов, а также гепатобилиарных и ренальных нарушений (таблица 19) (Д.А. Артемьев, В.С. Клоков, 2024).

Аспартатаминотрансфераза (ASAT) – внутриклеточный фермент, располагающийся в больших концентрациях в печени, сердце, мускулатуре, необходимый для обмена веществ. Концентрация данного фермента повышается вследствие некроза гепатоцитов, кардиомиоцитов различной этиологии, травмах мускулатуры, преобладает в миокарде. Уровень ASAT спустя трое суток в первой группе показал $25,7 \pm 2,1$ Е/л, во второй $30,0 \pm 2,7$ Е/л, в третьей $24,8 \pm 1,1$ Е/л. Пятнадцатые сутки после оперативного вмешательства данный показатель в первой группе составил $31,9 \pm 3,0$ Е/л, во второй $37,5 \pm 2,9$ Е/л, в третьей $38,1 \pm 2,2$ Е/л.

Аланинаминотрасфераза (ALAT) также относится к внутриклеточным ферментам, входящий в обменные процессы аминокислот. Располагается в клетках печени, почек, миокарда и скелетной мускулатуры. Концентрация данного фермента увеличивается, так же, как и ASAT, вследствие некроза гепатоцитов, кардиомиоцитов различной этиологии, травмах мускулатуры, но в приоритете из-за патологий гепатобилиарной системы. Показатель ALAT через трое суток в первой группе составил $32,7 \pm 3,1$ Е/л, во второй $37,9 \pm 2,7$ Е/л, в третьей – $29,4 \pm 2,4$ Е/л. Пятнадцатые сутки спустя после оперативного вмешательства данные значение в первой группе составили $41,0 \pm 3,9$ Е/л, во второй $51,3 \pm 4,4$ Е/л, в третьей $40,3 \pm 3,4$ Е/л.

Общий билирубин (TBil) – продукт метаболизма гемоглобина, конъюгируется в гепатобилиарной системе с глюкуроновой кислотой для

образования моно- и диглюкуронидов, высвобождающийся с желчью. Данный показатель в сыворотке повышается в связи с обструкцией желчевыводящих путей, гемолизе, интоксикации. Уровень данного показателя через трое суток составил $5,4 \pm 0,4$ ммоль/л в первой группе, во второй $5,3 \pm 0,4$ ммоль/л, в третьей $5,0 \pm 0,2$ ммоль/л. На пятнадцатые сутки после оперативного вмешательства значения в первой группе составили $7,4 \pm 0,5$ ммоль/л, во второй $8,6 \pm 0,3$ ммоль/л, в третьей группе $8,7 \pm 0,6$ ммоль/л.

Показатель холестерина (Chol) регулируется метаболизмом жиров, зависит от функции гепатобилиарной, выделительной и эндокринной систем. Уровень холестерина через 3 суток после оперативного вмешательства в первой группе составил $2,9 \pm 0,2$ ммоль/л, во второй $3,8 \pm 0,2$ ммоль/л, в третьей $5,1 \pm 0,3$ ммоль/л. Через 15 суток после операции данный показатель составлял в первой группе $3,1 \pm 0,5$ ммоль/л, во второй $5,1 \pm 0,3$ ммоль/л, в третьей $4,2 \pm 0,1$ ммоль/л.

Креатинин (Cre) является маркером фильтрационной функции выделительной системы. В связи с этим показатели его уровня являются объективно информативным. Через 3 суток после оперативного вмешательства в первой группе креатинин составил $80,1 \pm 6,3$ мкмоль/л, во второй $94,7 \pm 8,2$ мкмоль/л, в третьей $75,7 \pm 4,7$ мкмоль/л. Спустя пятнадцать суток значения несущественно снизились: в первой группе до $90,7 \pm 8,5$ мкмоль/л, во второй до $82,1 \pm 6,4$ мкмоль/л, в третьей до $74,9 \pm 4,6$ мкмоль/л.

Мочевина (Urea) считается финальным продуктом белкового обмена. Уровень мочевины повышается при дестабилизации выделительной функции печени и почек. В связи с этим определение уровня мочевины в крови необходимо для изучения возможного токсического действия от остеопластического биокомпозиционного материала на организм животных. В первой группе после трех суток с момента операции уровень мочевины составил $7,2 \pm 0,6$ ммоль/л, во второй $7,2 \pm 0,3$ ммоль/л, в третьей $7,0 \pm 0,5$ ммоль/л. На пятнадцатые сутки после оперативного вмешательства в первой группе значение мочевины составило $9,4 \pm 0,8$ ммоль/л, во второй $9,3 \pm 0,8$ ммоль/л, в третьей $10,2 \pm 0,7$ ммоль/л.

Показатель глюкозы (Glu) в крови может изменяться при физической нагрузке, хронических интоксикационных процессах. Уровень глюкозы через трое суток в первой группе составил $5,3 \pm 0,3$ ммоль/л, во второй $3,7 \pm 0,2$ ммоль/л, в третьей $4,7 \pm 0,2$ ммоль/л. На пятнадцатые сутки после оперативного вмешательства значение в первой группе составили $6,6 \pm 0,5$ ммоль/л, во второй $5,2 \pm 0,2$ ммоль/л, в третьей $6,3 \pm 0,2$ ммоль/л. Отсутствие гипогликемии характеризует отсутствие хронической интоксикации от модифицированного и оригинального покрытия для имплантов на организм животных.

Гиперпротеинемия определяется при острых воспалительных и патологических процессах. Содержание общего белка (TP) не выходило за референсные значения в течение всего послеоперационного периода, в частности данный показатель, через трое суток в первой группе составлял $66,8 \pm 6,1$ г/л, во второй $72,7 \pm 5,7$ г/л, в третьей $64,9 \pm 5,5$ г/л. На пятнадцатые сутки после оперативного вмешательства данный показатель у первой группы составлял $74,7 \pm 5,9$ г/л, во второй $71,9 \pm 5,9$ г/л, в третьей $72,1 \pm 4,2$ г/л. Спустя месяц концентрация данного показателя в первой группе составляла $69,3 \pm 5,3$ г/л, во второй $77,8 \pm 4,9$ г/л, в третьей $66,8 \pm 5,1$ г/л.

Также важные составляющие биохимических показателей – микроэлементы калий (K), кальций (Ca), фосфор (P), отвечающие за функционирование нервной системы, сокращение мышц, поддержание водного баланса, стабилизацию кровяного давления и сахара в крови, формирование тканей (костной и нервной), также во всех группах за весь период времени проведения эксперимента не выходили за референсные значения (Д.А. Артемьев, 2022). Это говорит об отсутствии негативных факторов от модифицированного (nSe) и оригинального покрытия для ускорения консолидации переломов животных.

Подводя итог, следует сказать, что при использовании модифицированного наночастицами селена (nSe) покрытия имплантов для восстановления костной ткани животных отсутствует угнетение микроциркуляции в почках, выделительной функции, что характеризует отсутствие нефротоксичности композита. Наряду с этим отсутствие изменений активности цитолитических

ферментов ALAT и ASAT, которые находились в пределах референсных значений на протяжении всего эксперимента, говорит об отсутствии патологических процессов в гепатобилиарной системе. Интоксикационные и воспалительные поражения в гепатобилиарной и выделительной системах не обнаружено спустя месяц после использования имплантов с модифицированным покрытием. Благодаря клиническому анализу определено отсутствие септических процессов, гипоксии и анемического синдрома.

Кроме того, нельзя не отметить, что нежелательные реакции, осложнения, аллергические реакции со стороны животных во время процесса консолидации отсутствовали (Д.А. Артемьев, В.С. Клоков, 2023).

2.2.3.2. Рентгенография костной структуры при использовании модифицированного покрытия у животных-компаньонов

Данное исследование проведено с целью качественного анализа рентгеноморфологических характеристик консолидации переломов бедренных (пример 1), большеберцовых (пример 2), плечевых (пример 3) костей при использовании модифицированного наночастицами селена (nSe) биосовместимого остеопластического покрытия.

Рентгенографию проводили в соответствии с пунктом 3.1 до, после хирургического вмешательства и на момент извлечения имплантов в латеро-медиальной и дорзо-вентральной ортогональных проекциях.

Пример 1. Пациент Тосик, 5,0 месяцев, шпиц, 3,3 кг. В ветеринарную клинику DoctorVet поступил сразу после нанесения владельцем неумышленной травмы, что привело к косому перелому средней трети бедра слева (по классификации АО VET – 32-A2) (Рисунок 5). На данной рентгенограмме визуализируется смещение костных отломков по длине и ширине, диастаз составляет 2,5 мм.

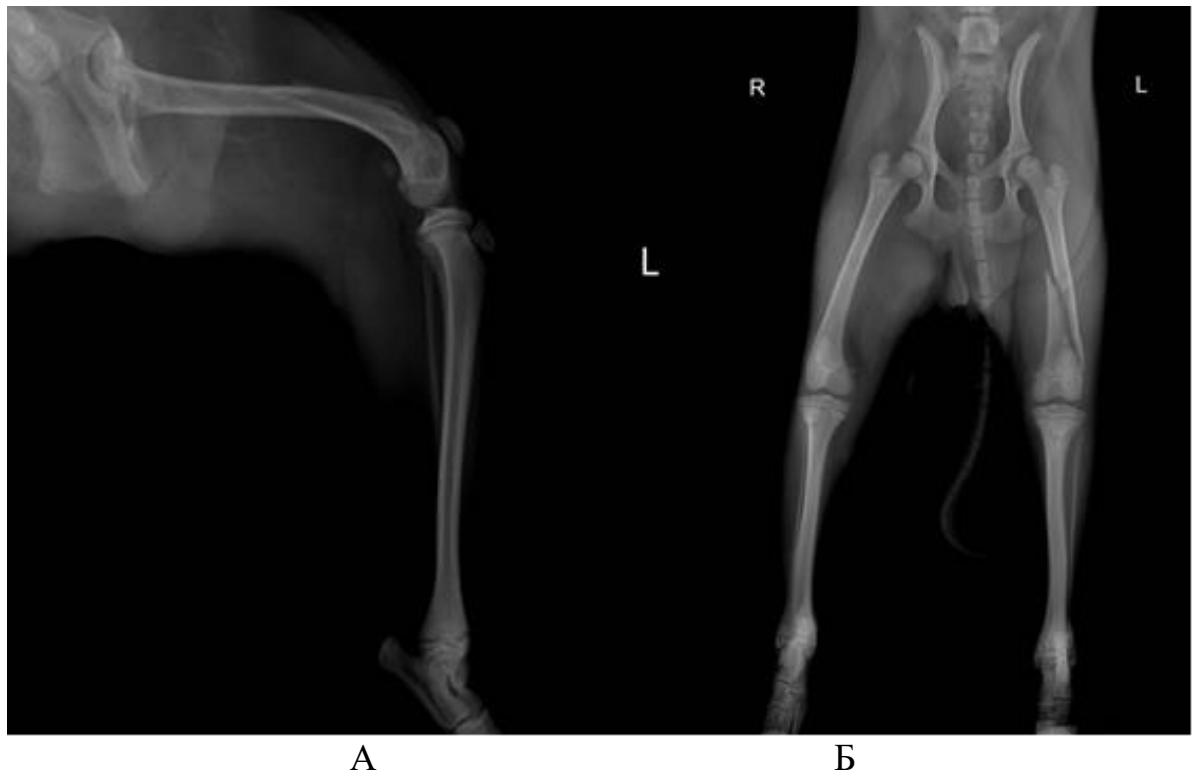


Рисунок 5 – Рентгенограмма левой тазовой конечности собаки. Косой перелом средней трети бедра (А - латеро-медиальная проекция, Б - дорзо-вентральная проекция)

При клиническом, ортопедическом и рентгенологическом исследовании выявлена патологическая подвижность и отсутствие опороспособности на левой тазовой конечности. Принято решение об оперативном вмешательстве с проведением комбинированного остеосинтеза и установкой интрамедуллярного имплантата с нанесенным модифицированным покрытием наночастицами селена (nSe) (Рисунок 6). На данной рентгенограмме визуализируется восстановление анатомической целостности перелома и создании компрессии между отломками с помощью 2-х винтов, а также установки АВФ (В.С. Клоков, 2025).

Послеоперационный период проходил без нарушений. На первые сутки, после оперативного вмешательства, пациент начал пользоваться тазовой конечностью. Хромота наблюдалась в течение 3-х дней, в дальнейшем – отсутствовала.

Консолидация произошла через 35 дней (нормальные временные рамки для сращения составляют 48-61 суток), что установлено клинически и рентгенологически (Рисунок 7). В связи с изначальной точной анатомической

репозиции и компрессии, сращение осуществилось согласно первичному заживлению без формирования костной мозоли (В.С. Клоков, 2025).

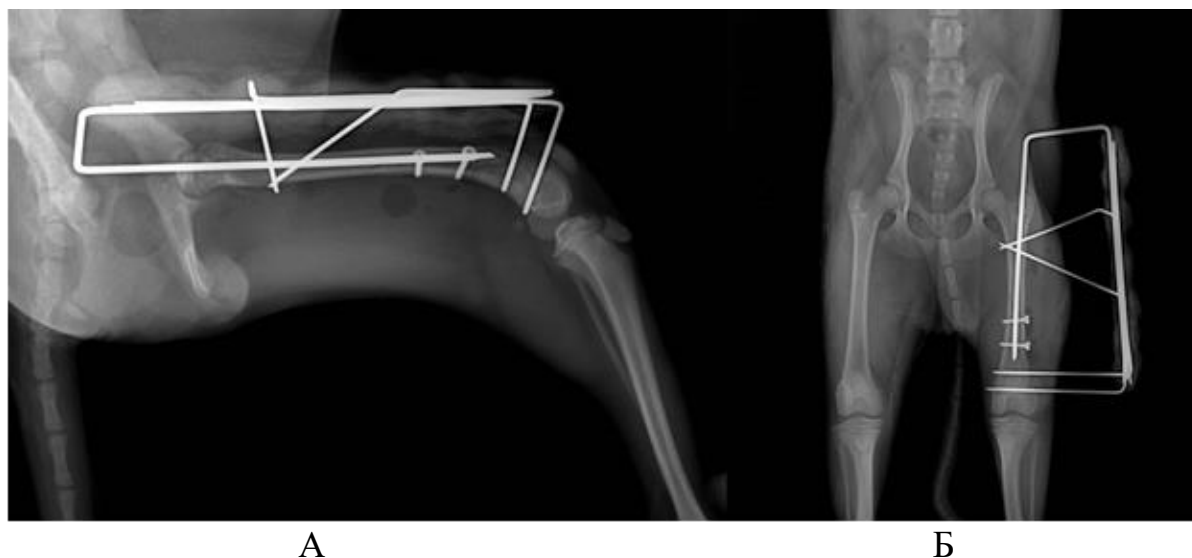


Рисунок 6 – Рентгенограмма левой тазовой конечности собаки после проведения комбинированного остеосинтеза, где интрамедуллярный имплантат с нанесенным модифицированным покрытием наночастицами селена (nSe) (А - латеро-медиальная проекция, Б - дорзо-вентральная проекция)

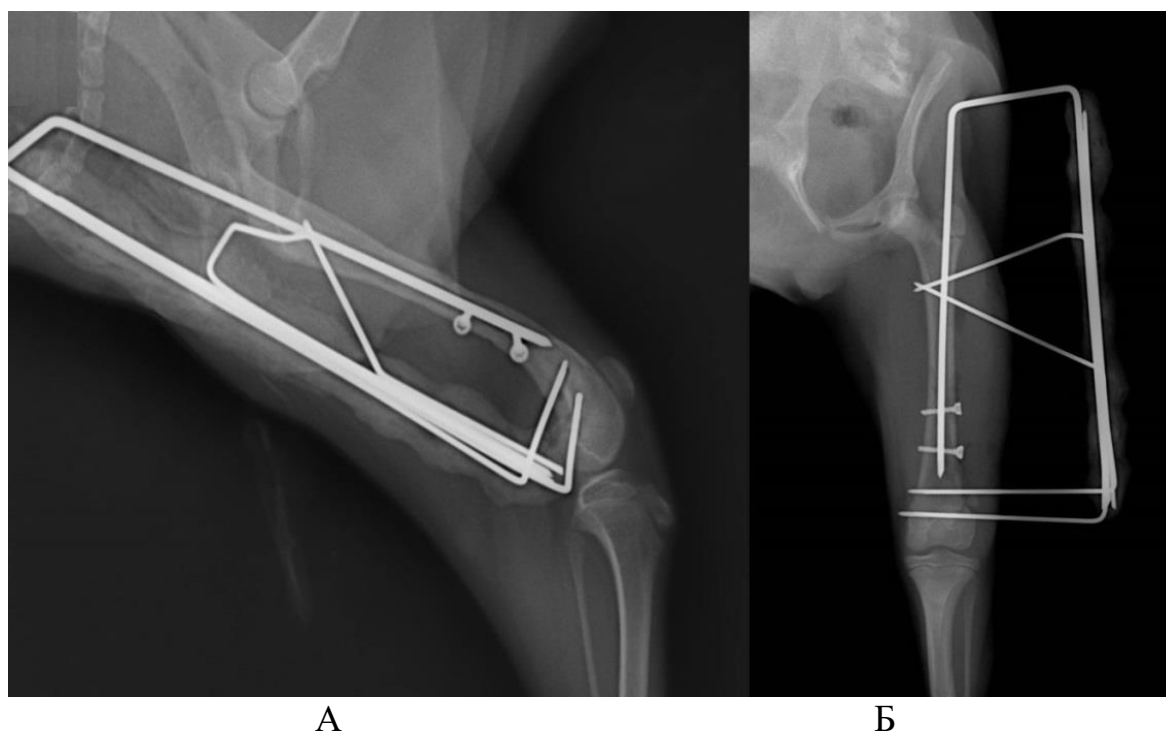


Рисунок 7 – Рентгенограмма законсолидированного перелома бедренной кости спустя 35 дней (А - латеро-медиальная проекция, Б - дорзо-вентральная проекция)

Спустя 35 дней сняли металлоконструкцию. Достигнут хороший анатомо-функциональный эффект лечения (Рисунок 8).



Рисунок 8 – Рентгенограмма законсолидированного косого перелома левой бедренной кости собаки спустя 35 дней после извлечения металлоконструкции (дорзо-вентральная и латеро-медиальная проекции)

Пример 2. Пациент Бублик, 9,0 месяцев, йоркширский терьер, 4,5 кг. В ветеринарную клинику DoctorVet поступил сразу после автотравмы, что привело к поперечному перелому дистальной трети голени справа (по классификации АО VET – 43-A3) (Рисунок 9). На данной рентгенограмме визуализируется смещение костных отломков по ширине, диастаз составляет 1,5 мм.



Рисунок 9 – Рентгенограмма правой тазовой конечности собаки. Поперечный перелом дистальной трети голени (А - латеро-медиальная проекция, Б - дорзо-вентральная проекция)

При клиническом, ортопедическом и рентгенологическом исследовании выявлена патологическая подвижность и отсутствие опороспособности на правой тазовой конечности. Принято решение об оперативном вмешательстве с проведением комбинированного остеосинтеза и установкой интрамедуллярного имплантата с нанесенным модифицированным покрытием наночастицами селена (nSe) (Рисунок 10). На данной рентгенограмме визуализируется восстановление анатомической целостности перелома при помощи установки АВФ

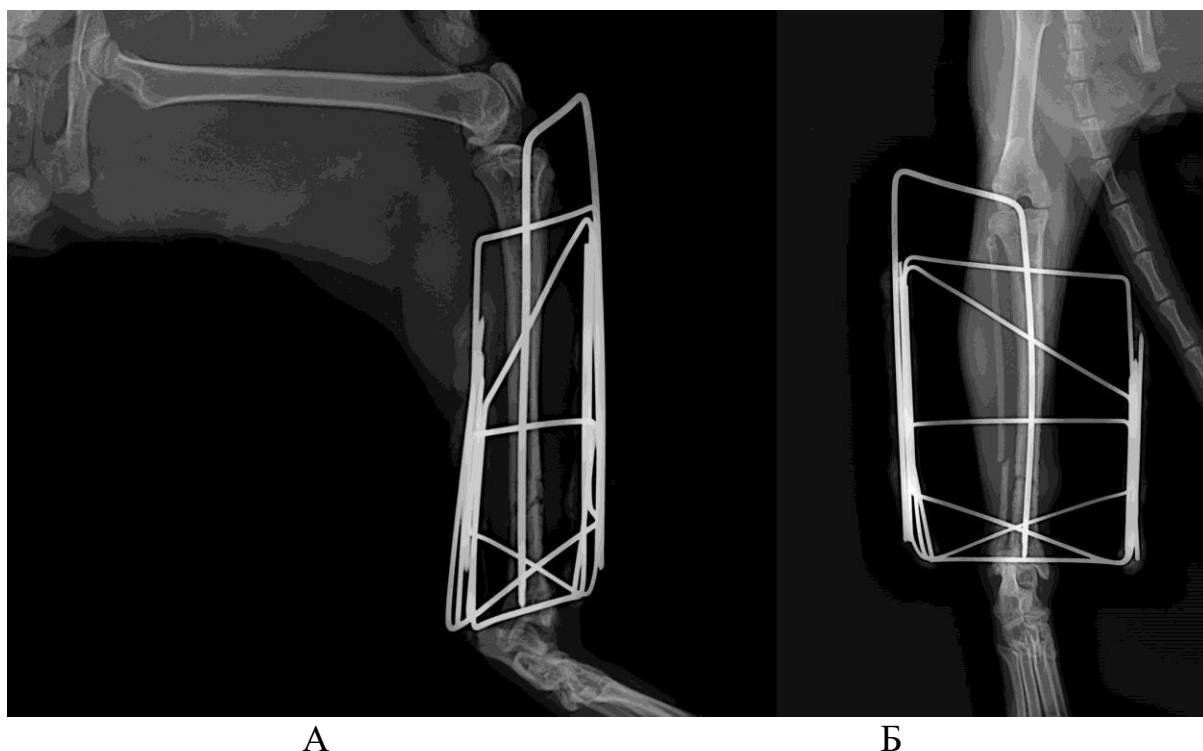


Рисунок 10 – Рентгенограмма правой тазовой конечности собаки после проведения комбинированного остеосинтеза, где интрамедуллярный имплантат с нанесенным модифицированным покрытием наночастицами селена (nSe) (А - латеро-медиальная проекция, Б - дорзо-вентральная проекция)

Послеоперационный период проходил без нарушений. На вторые сутки, после оперативного вмешательства, пациент начал пользоваться тазовой конечностью. Хромота наблюдалась в течение 4-х дней, в дальнейшем – отсутствовала.

Консолидация диагностирована на 31 сутки (нормальные временные рамки для сращения составляют 48-61 суток), что установлено клинически и рентгенологически (Рисунок 11). В связи с изначальной точной анатомической

репозиции и компрессии, сращение осуществилось согласно первичному заживлению без формирования костной мозоли (В.С. Клоков, 2025).

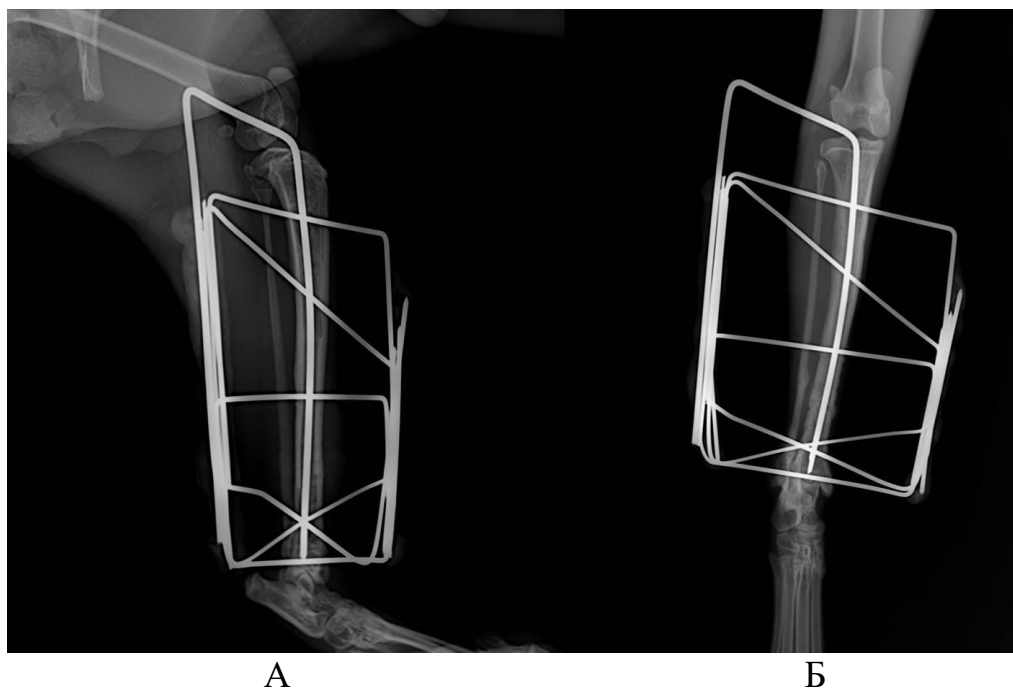


Рисунок 11– Рентгенограмма законсолидированного перелома голени спустя 31 день (А - латеро-медиальная проекция, Б - дорзо-вентральная проекция)

Спустя 31 день сняли металлоконструкцию. Достигнут хороший анатомо-функциональный эффект лечения (Рисунок 12).



Рисунок 12– Рентгенограмма законсолидированного поперечного перелома голени собаки спустя 31 день после извлечения металлоконструкции (дорзо-вентральная и латеро-медиальная проекции)

Пример 3. Пациент Василиса, 11,0 месяцев, метис, 6,0 кг. В ветеринарную клинику DoctorVet поступил сразу после кататравмы, что привело к поперечному перелому дистальной трети плечевой кости слева (по классификации АО VET – 13-A3) (Рисунок 13). На данной рентгенограмме визуализируется смещение костных отломков по длине и ширине, диастаз составляет 1,0 см.



Рисунок 13 – Рентгенограмма левой грудной конечности собаки. Поперечный перелом дистальной трети плечевой кости (А - латеро-медиальная проекция, Б - дорзо-вентральная проекция)

При клиническом, ортопедическом и рентгенологическом исследовании выявлена патологическая подвижность и отсутствие опороспособности на левой грудной конечности. Принято решение об оперативном вмешательстве с проведением комбинированного остеосинтеза и установкой интрамедуллярного имплантата с нанесенным модифицированным покрытием наночастицами селена (nSe) (Рисунок 14). На данной рентгенограмме визуализируется восстановление анатомической целостности перелома при помощи установки АВФ.

Послеоперационный период проходил без нарушений. На вторые сутки, после оперативного вмешательства, пациент начал пользоваться тазовой конечностью. Хромота наблюдалась в течение 2-х дней, в дальнейшем – отсутствовала (В.С. Клоков, 2025).

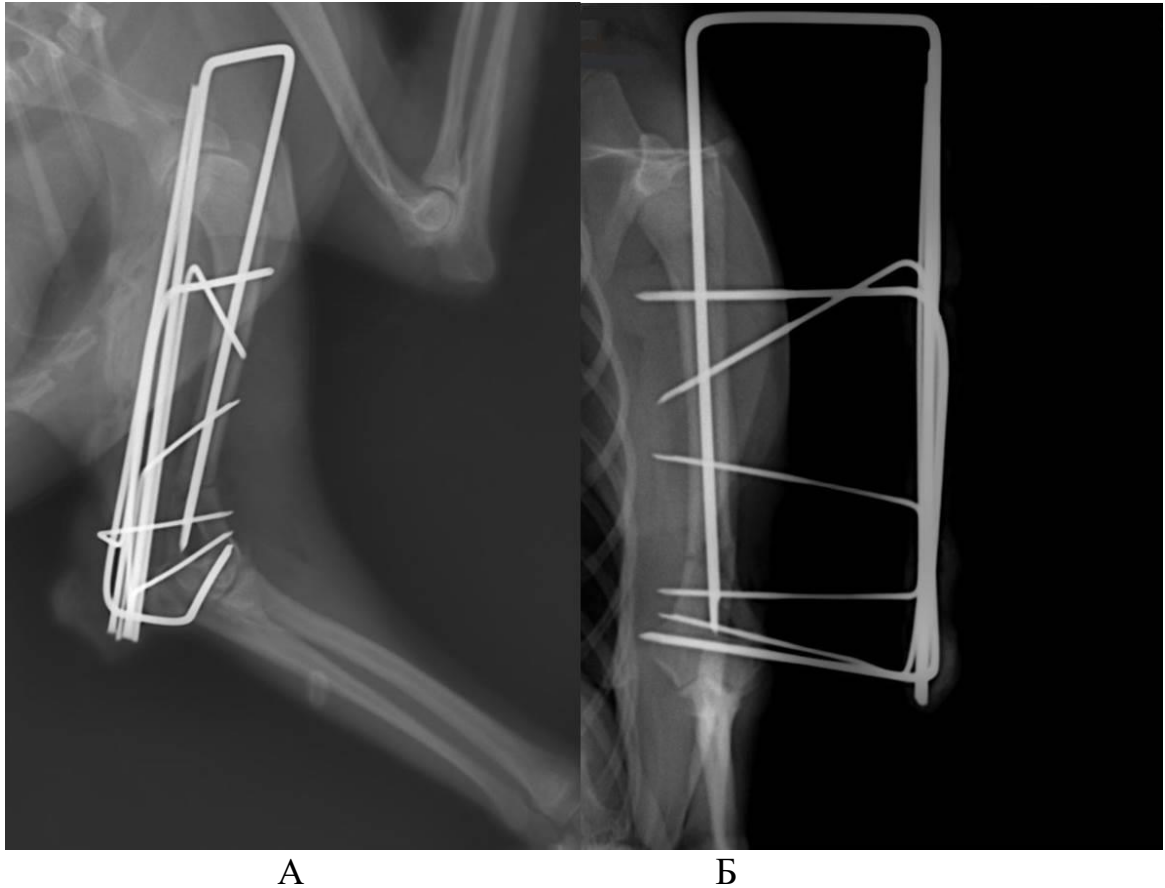
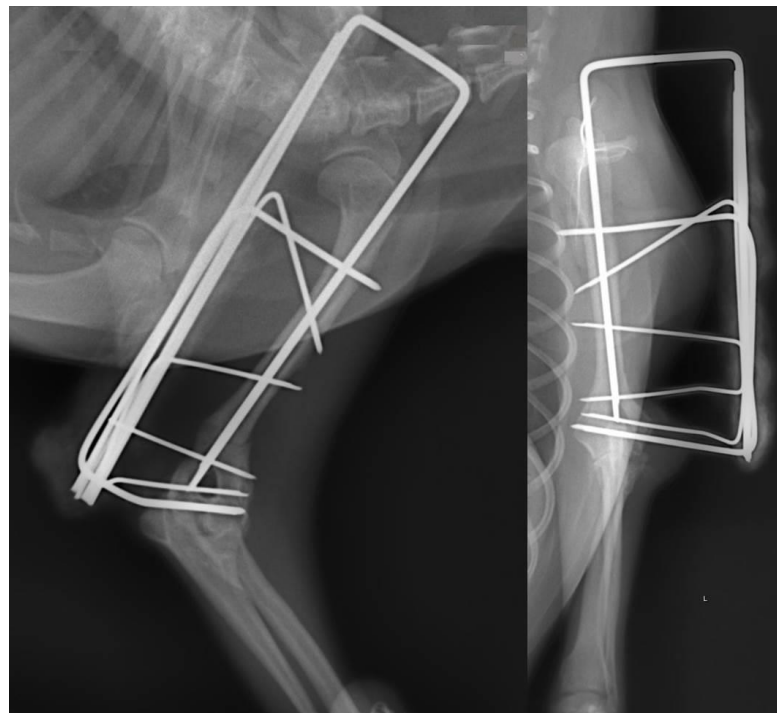


Рисунок 14 – Рентгенограмма левой грудной конечности собаки после проведения комбинированного остеосинтеза, где интрамедуллярный имплантат с нанесенным модифицированным покрытием наночастицами селена (nSe) (А - латеро-медиальная проекция, Б - дорзо-вентральная проекция)

Консолидация диагностирована на 33 сутки (нормальные временные рамки для сращения составляют 48-61 суток), что установлено клинически и рентгенологически (Рисунок 15). В связи с изначальной точной анатомической репозиции и компрессии, сращение осуществилось согласно первичному заживлению без формирования костной мозоли (В.С. Клоков, 2025).

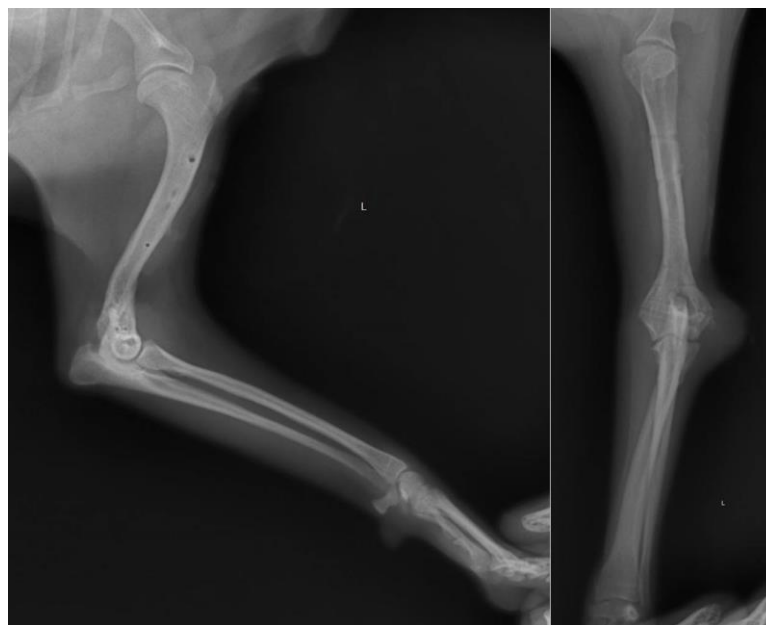
Спустя 33 дня сняли металлоконструкцию. Достигнут хороший анатомо-функциональный эффект лечения (Рисунок 16).



А

Б

Рисунок 15 – Рентгенограмма законсолидированного поперечного перелома плечевой кости слева спустя 33 дня (А - латеро-медиальная проекция, Б - дорзо-вентральная проекция)



А

Б

Рисунок 16 – Рентгенограмма законсолидированного поперечного перелома плечевой кости слева спустя 33 дня после извлечения металлоконструкции (дорзо-вентральная и латеро-медиальная проекции)

Во всех случаях остеосинтеза определено стабильное состояние дистальных и проксимальных фрагментов.

Комбинированные аппараты (АВФ + интрамедуллярная спица) оставались в неподвижном состоянии без смещения. Диастаз не превышал 0,1 – 0,2 мм.

Плотный контакт костных участков с отсутствием выраженной костной мозоли (параоссальная, интердермальная, периостальная, эндостальная реакции), при применении модифицированного покрытия наночастицами селена (nSe), диагностировалось – спустя 4,0-5,0 недель. В опытной группе, где использовалась оригинальное покрытие, время на сращение перелома составило 4,5-5,5 недель, при этом в контрольной группе данный показатель установлен на отметке в 7,0-8,0 недель (В.С. Клоков, 2025).

Разница между опытными группами составила 11,37%. Однако, при сравнении первой опытной и контрольной группы зарегистрировано сокращение времени на 40,1% (Д.А. Артемьев, 2024; В.С. Клоков, 2025).

2.2.3.3. Гистологическое строение костной структуры при использовании модифицированного покрытия у целевых животных-компаньонов

Данное исследование проведено с целью качественной аналитики гистологического аспекта сращения перелома средней трети диафиза бедренной кости собак (32-A2, по классификации переломов АО VET) при клиническом применении модифицированного наночастицами селена (nSe) покрытия для имплантов.

Гистологию проводили в соответствии с пунктом 3.1 после диагностирования полной консолидации косого перелома средней трети бедра слева (АО VET – 32-A2) на 35 сутки, а также контрлатерально. Для этого использовали иглы для трепанобиопсии BEST LISAS, в момент извлечения металлоконструкции (АВФ + интрамедуллярная спица), под нейролептаналгезией.

При изучении гистотопографического препарата костного регенерата собаки (здоровая конечность) отмечается физиологическое морфологическое строение, представленное пластинчатой тканью, состоящее из Гаверсовых (вдоль) и Фолькмановских (поперек) каналов, расположенных в компактной и губчатой

структурах, с достаточно большим количеством остеобластов, формирующих матрикс и остеоцитами, поддерживающих данный матрикс (Рисунок 17, 18, 19) (В.С. Клоков, 2025).

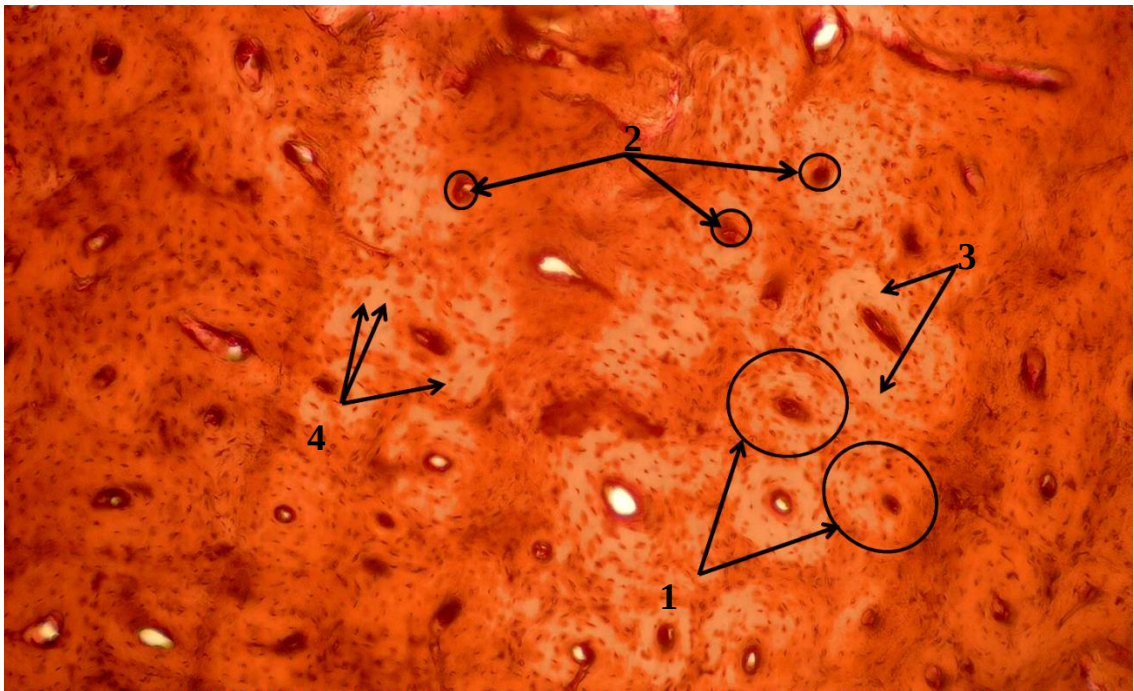


Рисунок 17 – Гистологическая картина здоровой бедренной кости собаки. 1 – остеон; 2 – Гаверсов канал; 3 – матрикс; 4 – остеоцит. Поперечный срез, ув. ок.:10; об.:10

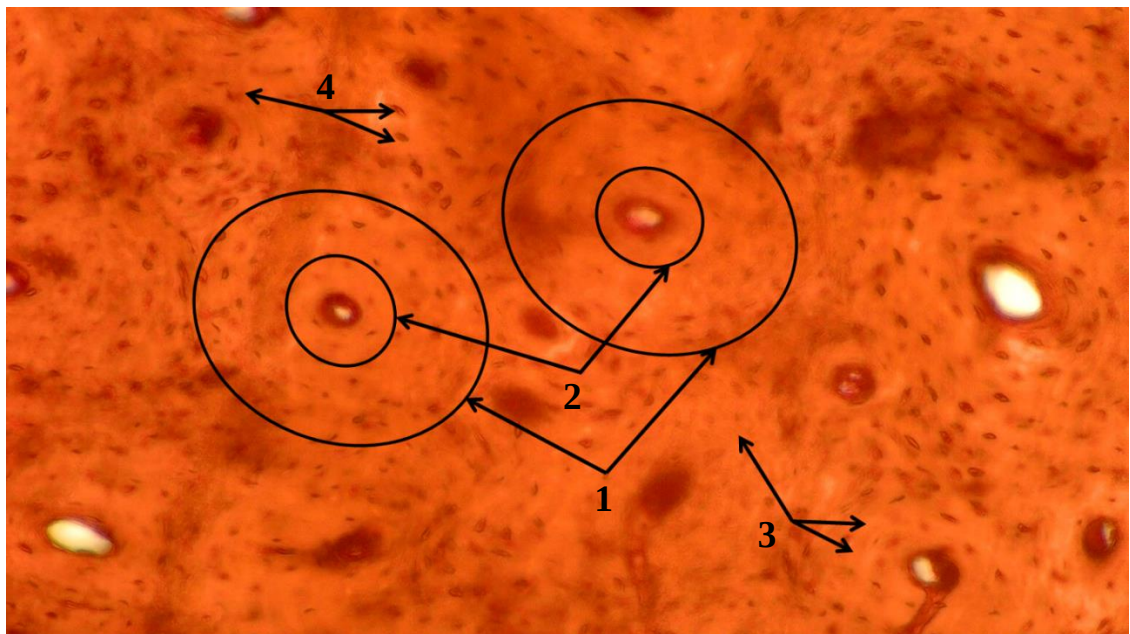


Рисунок 18 – Гистологическая картина здоровой бедренной кости собаки. 1 – остеон; 2 – Гаверсов канал; 3 – матрикс; 4 – остеоцит. Поперечный срез, ок.:10; об.:20

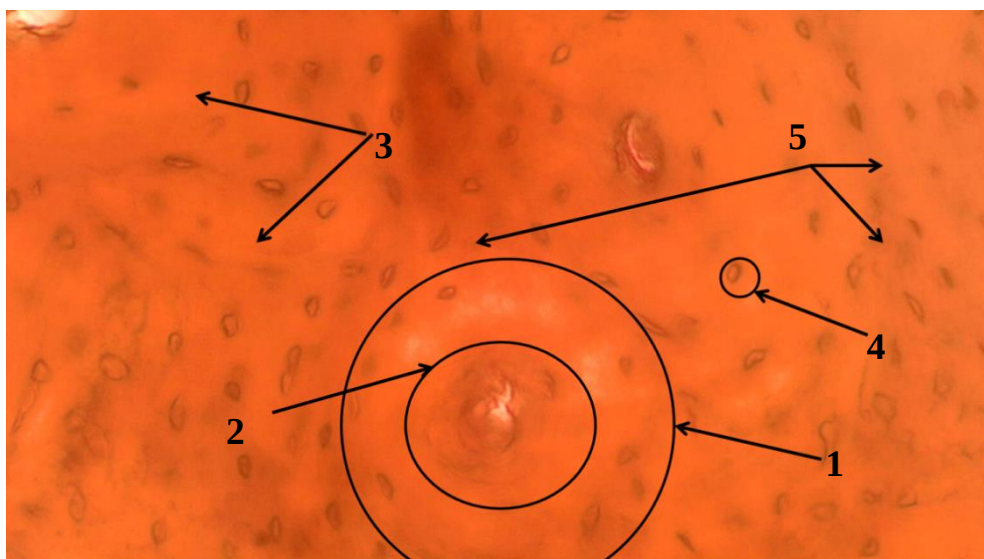


Рисунок 19 – Гистологическая картина здоровой бедренной кости собаки. 1 – остеон; 2 – Гаверсов канал; 3 – матрикс; 4 – остеоцит; 5 - общий слой генеральных пластинок. Поперечный срез, ок.:10; об.:40

На рисунках 20, 21, 22 (консолидированная кость) достаточно визуализируются округлой формы остеоны [1], гаверсовы каналы с кровенаполненными кровеносными сосудами [2], также concentrically расположенный матрикс [3] со вставочными пластинками, в них видны остеоциты [4], связанные между собой отростками, также между остеонами располагаются остаточные пластинки старых разрушенных остеонов с общим слоем генеральных пластинок [5] (В.С. Клоков, 2025).

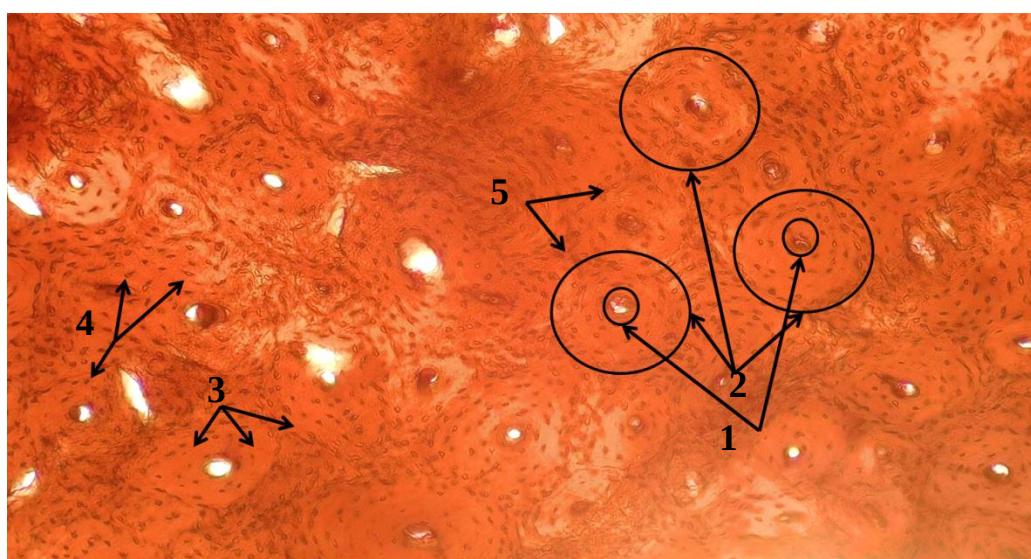


Рисунок 20 – Гистологическая картина консолидированной бедренной кости собаки. 1 – остеон; 2 – Гаверсов канал; 3 – матрикс; 4 – остеоцит; 5 – общий слой генеральных пластинок. Поперечный срез, ок.:10; об.:10

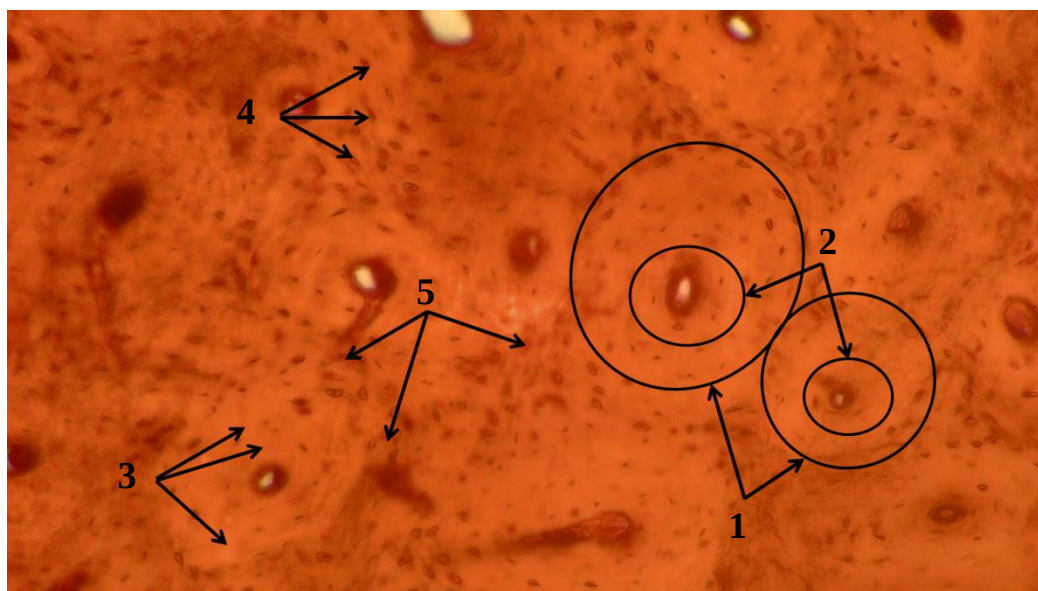


Рисунок 21 – Гистологическая картина консолидированной бедренной кости собаки. 1 – остеон; 2 – Гаверсов канал; 3 – матрикс; 4 – остеоцит; 5 - общий слой генеральных пластинок. Поперечный срез, ок.:10; об.:20

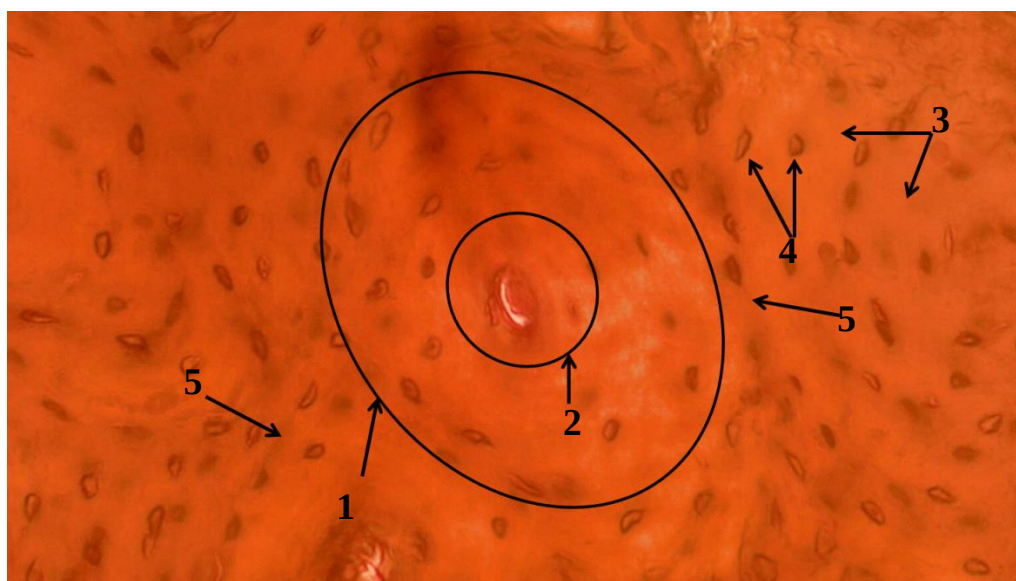


Рисунок 22 – Гистологическая картина консолидированной бедренной кости собаки. 1 – остеон; 2 – Гаверсов канал; 3 – матрикс; 4 – остеоцит; 5 - общий слой генеральных пластинок. Поперечный срез, ок.:10; об.:40

Установлено отсутствие какого-либо аллергизирующего и цитостатического эффекта, воспалительного процесса, препятствующего формированию здоровой костной ткани, при этом наличие небольшого межтканевого пространства указывает на более компактную структуру вновь образованных структур (В.С. Клоков, 2025).

Визуализируется восстановленная микроциркуляция с множеством физиологических Гаверсовых каналов с кровеносными сосудами, нервной системой и адекватной трофикой тканей. Отсутствие фиброзной, склерозно-хрящевой ткани свидетельствует об ускоренном процессе репаративного остеогенеза (В.С. Клоков, 2025).

Наличие существенного количества зрелых остеонов, высокая степень васкуляризации и концентрации вставочных и генеральных пластинок свидетельствует о законченном этапе остеогенеза.

2.2.3.4. Динамика цитокинового профиля в оценке прагматизации репаративного остеогенеза у целевых животных-компаньонов

Данное исследование проведено с целью изучения цитокинового профиля крови собак, при применении модифицированного наночастицами селена (nSe) покрытия для имплантов, согласно с пунктом 3.1 на трёхфазном анализаторе «TSM FC». Полученные результаты обработаны и сформированы в виде таблицы 20 и рисунка 23 и 24.

Таблица 20 – Динамика уровня цитокинов в сыворотке крови животных при использовании модифицированного (nSe) покрытия для имплантов ($M \pm m$, $n=18$)

Группа	Показатель/ срок	До операции	3 дня	2 недели	4 недели	6 недель	8 недель
Опытная группа №1 (модифицированное покрытие с наночастицами селена, $n=18$)	ФНО- α (пкг/мл)	1,25 $\pm$ 0,05	1,32 $\pm$ 0,08	1,24 $\pm$ 0,09	1,11 $\pm$ 0,09	0,95 $\pm$ 0,07	0,81 $\pm$ 0,06
	VEGF (пкг/мл)	13,23 $\pm$ 1,01	17,32 $\pm$ 1,45*	*69,35 $\pm$ 5,59*	*79,32 $\pm$ 6,32*	61,22 $\pm$ 4,90*	*35,25 $\pm$ 3,20*
Опытная группа №2 (оригинальное покрытие, $n=18$)	ФНО- α (пкг/мл)	1,23 $\pm$ 0,07	1,29 $\pm$ 0,09	1,21 $\pm$ 0,08*	1,09 $\pm$ 0,07*	0,93 $\pm$ 0,08	0,82 $\pm$ 0,08
	VEGF (пкг/мл)	12,12 $\pm$ 1,03	19,13 $\pm$ 1,12	*63,21 $\pm$ 4,80*	*78,26 $\pm$ 3,67*	59,32 $\pm$ 4,89*	33,67 $\pm$ 3,69*
Контрольная группа (без применения покрытия, $n=18$)	ФНО- α (пкг/мл)	1,13 $\pm$ 0,07	1,15 $\pm$ 0,07	1,19 $\pm$ 0,08	1,22 $\pm$ 0,06	1,03 $\pm$ 0,07	0,96 $\pm$ 0,07
	VEGF (пкг/мл)	12,97 $\pm$ 0,75	15,16 $\pm$ 1,23	*32,94 $\pm$ 2,43	*56,30 $\pm$ 4,32	74,21 $\pm$ 4,21	*59,84 $\pm$ 3,47

Примечание: * Различие по данному показателю статистически достоверно между опытными и контрольной группами на соответствующий день эксперимента ($P \leq 0,05$);

Материалом для измерения уровня цитокинов ФНО- α (фактор некроза опухолей), VEGF (фактор роста эндотелия сосудов) являлась сыворотка крови экспериментальных животных (собак). Аспирацию крови для исследования производили из вены предплечья утром натощак до проведения операции, на 3-и, 14-е, 28-е, 42-е и 56-е сутки после неё (Д.А. Артемьев, В.С. Клоков, 2024).

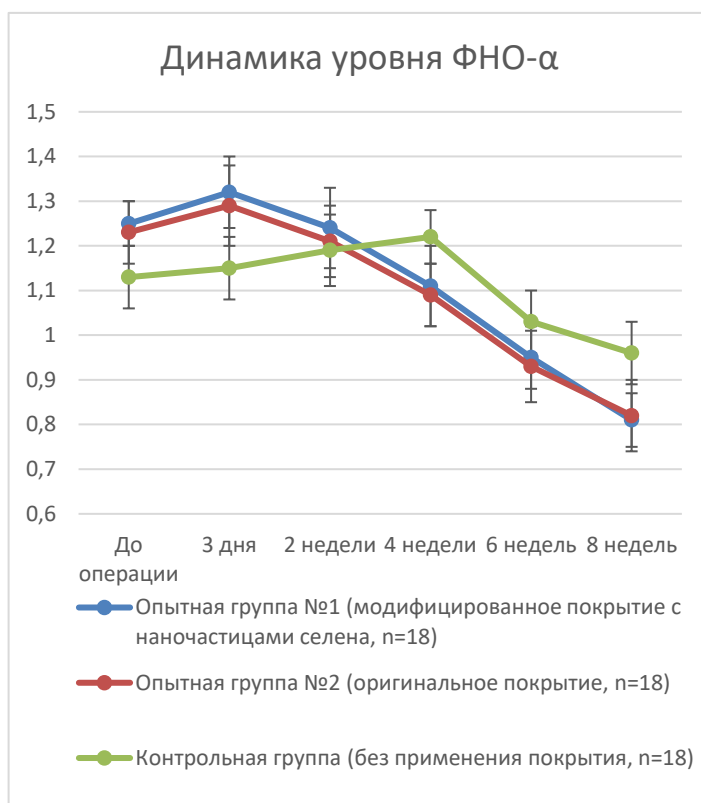


Рисунок 23 – Динамика содержания ФНО- α в сыворотке собак

Как видно на рисунке 23, исходный уровень ФНО- α в сыворотке крови до хирургического вмешательства во всех группах определялся в пределах от $1,13 \pm 0,07$ до $1,25 \pm 0,05$ пкг/мл.

Спустя 3 суток после проведения комбинированного остеосинтеза наблюдалось увеличение данного цитокина в первой опытной группе на 5,6% ($1,32 \pm 0,08$ пкг/мл), во второй опытной группе на 4,9% ($1,29 \pm 0,09$ пкг/мл), тогда как в контрольной группе на 1,8% ($1,15 \pm 0,07$ пкг/мл), для опытных групп это было максимальным зарегистрированным значением на всём протяжении опыта. Однако в контрольной группе концентрация ФНО- α имела тенденцию к росту вплоть до 28 суток, и возросла по сравнению с данными полученными до операции на 7,9% ($1,22 \pm 0,06$ пкг/мл), тогда как в опытных группах с 3 по 28 суток

после операции концентрация ФНО- α снижалась и достигла $1,11 \pm 0,09$ пкг/мл в первой группе и $1,09 \pm 0,07$ пкг/мл во второй, что ниже данных полученных до операции на 11,2 и 11,3% соответственно. Стоит отметить, что разница между первой и второй опытной группами, как в большую, так и в меньшую сторону, не имела статистически значимых отличий.

Разница во времени достижения пиковой концентрации ФНО- α в сыворотке крови у животных опытных и контрольной группы составляла 25 дней, активизация репаративных процессов в опытных группах связана с фармакологическим действием модифицированного (nSe) покрытия, модулирующего клеточную пролиферацию и ангиогенез. Рост концентрации ФНО- α в сыворотке служит маркером острого воспаления, возникающего в ответ на механическую травму тканей, а также при выполнении оперативного доступа, кортикотомии и наложении швов. При переломе происходит не только нарушение целостности кости, но и повреждение периоста, мышц и сосудов, что приводит к формированию гематомы. В зоне повреждения накапливаются провоспалительные цитокины, факторы роста и другие, биологически активные молекулы.

Об этом также свидетельствует резкое повышение концентрации фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) с начала эксперимента (Рисунок 24).

Как видно на рисунке 24, исходный уровень VEGF в сыворотке крови до хирургического вмешательства во всех группах определялся в пределах от $12,12 \pm 1,03$ до $13,23 \pm 1,01$ пкг/мл.

По истечению 3-х суток с момента операции уровень данного цитокина в сыворотках крови экспериментальных животных возрос в первой опытной группе на 30,9% ($17,32 \pm 1,45$ пкг/мл), во второй опытной группе на 57,8% ($19,13 \pm 1,12$ пкг/мл), в контрольной группе на 16,9% ($15,16 \pm 1,23$ пкг/мл). Концентрации VEGF в первой и второй опытной группах были объективно выше показателей контрольной на 14,2 и 26,1% соответственно.

Через 2 недели с момента оперативного вмешательства уровень данного цитокина в первой и второй опытных группах превышал значение в контрольной

группе ($32,94 \pm 2,43$ пкг/мл) на 110% ($69,35 \pm 5,59$ пкг/мл) и 91,8% ($63,21 \pm 4,8$ пкг/мл) соответственно. Тенденция к росту концентрации VEGF в опытных группах продолжалась вплоть до 28-ми суток после операции и достигала $79,32 \pm 6,32$ и $78,26 \pm 3,67$ пкг/мл соответственно первой и второй опытной группе, что превышало уровень в контрольной ($56,3 \pm 4,32$) на 40,9 и 39% соответственно.

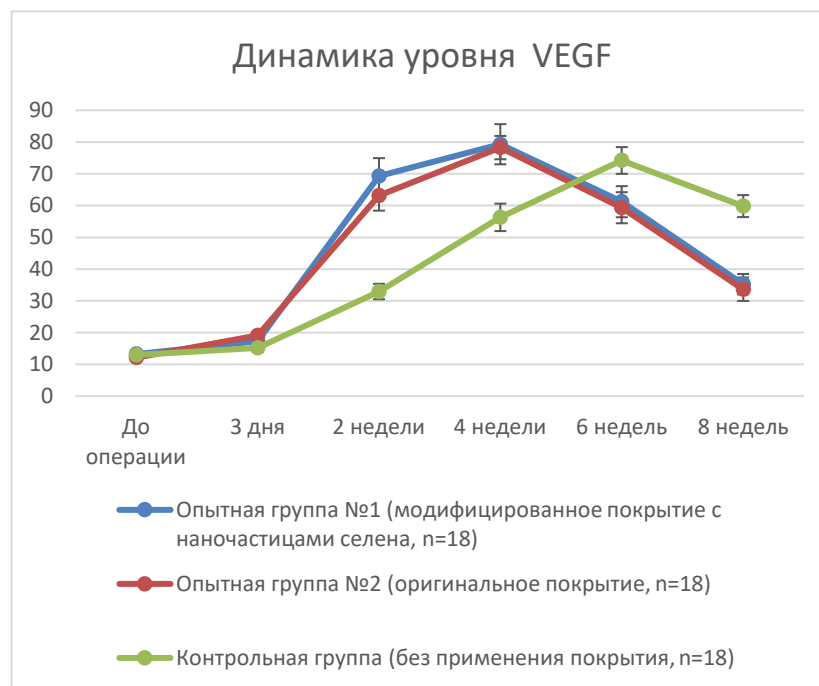


Рисунок 24 – Динамика содержания VEGF в сыворотке экспериментальных животных

Максимальная концентрация VEGF в контрольной группе ($74,21 \pm 4,21$) определена на 42-е сутки, в то время в опытных группах отмечалось снижение данного цитокина на 22,8% ($61,22 \pm 4,9$) и 24% ($59,32 \pm 4,89$) соответственно первой и второй группе. Данные полученные из опытных групп были ниже аналогичным из контрольной на 17,5 и 20% соответственно.

Разница во времени достижения пиковой концентрации VEGF в сыворотке крови у животных опытных и контрольной группы составляла 14 дней

Ввиду ограниченной продолжительности исследования динамики цитокинового профиля стабилизацию уровня фактора роста эндотелия сосудов зафиксировать не удалось. Тем не менее, данные рентгенографии физикального осмотра подтвердили консолидацию перелома. Первоначальное повышение и последующее снижение концентрации VEGF отражают физиологический ответ на

травму костной ткани, включая индукцию васкуляризации и ангиогенеза. Образование новых кровеносных сосудов с участием мезенхимальных клеток способствует остеогенезу, обеспечивая репарацию остеогенеза.

Анализ результатов цитокинового профиля данных пациентов установил, что применение модифицированного и оригинального покрытия для имплантов в 1 и 2 опытной группах способствовало быстрому иммунному ответу с последующей стабилизацией в ранние сроки, по сравнению с контрольной группой.

2.2.3.5. Оценка уровня окислительного стресса при использовании модифицированного покрытия у животных-компаньонов

Данное исследование проведено с целью изучения уровня окислительного стресса у животных-компаньонов, при использовании модифицированного наночастицами селена (nSe) покрытия для имплантов.

Методическая основа данного исследования изложена в пункте 3.1. Получены следующие результаты концентраций глутатионпероксидазы (ГПО) и малонового диальдегида (МДА) (Таблица 21).

Таблица 21 – Динамика концентрации ГПО и МДА. в сыворотке крови животных при использовании модифицированного (nSe) покрытия для имплантов ($M \pm m$, $n=18$)

Срок, сутки	Опытная группа №1 (модифицированное покрытие наночастицами селена, $n=18$)		Опытная группа №2 (оригинальное покрытие, $n=18$)		Контрольная группа (без применения покрытия, $n=18$)	
	ГПО (нг/мл)	МДА (нмоль/мл)	ГПО (нг/мл)	МДА (нмоль/мл)	ГПО (нг/мл)	МДА (нмоль/мл)
До операции	73,4 $\pm$ 4,2	6,6 $\pm$ 0,09	74,1 $\pm$ 3,3	6,9 $\pm$ 0,07	72,3 $\pm$ 2,9	6,3 $\pm$ 0,12
3 сутки	*104,4 $\pm$ 6,9	7,0 $\pm$ 0,11	86,5 $\pm$ 5,5	7,2 $\pm$ 0,14	82,6 $\pm$ 0,5	7,1 $\pm$ 0,17
14 сутки	*139,3 $\pm$ 5,3	*4,4 $\pm$ 0,05	*110,2 $\pm$ 3,7	5,3 $\pm$ 0,06	97,2 $\pm$ 0,6	5,2 $\pm$ 0,09
28 сутки	*178,7 $\pm$ 8,1	*2,6 $\pm$ 0,02	*143,0 $\pm$ 7,1	*4,3 $\pm$ 0,04	123,1 $\pm$ 0,2	4,7 $\pm$ 0,07
42 сутки	*210,1 $\pm$ 12,9	*2,5 $\pm$ 0,02	*184,2 $\pm$ 9,9	*2,5 $\pm$ 0,04	156,7 $\pm$ 0,9	3,9 $\pm$ 0,03
56 сутки	*209,7 $\pm$ 14,6	*2,6 $\pm$ 0,03	*187,3 $\pm$ 8,4	*2,5 $\pm$ 0,04	162,3 $\pm$ 1,6	2,7 $\pm$ 0,03

Примечание: * Различие по данному показателю статистически достоверно между опытной и контрольной группами на соответствующий день эксперимента ($P \leq 0,05$);

Материалом для исследования являлась сыворотка крови животных (собак). Аспирацию крови для исследования производили из вены предплечья утром натощак до проведения операции, на 3-и, 14-е, 28-е, 42-е и 56-е сутки после неё.

Как видно из таблицы 21, концентрация ГПО в плазме крови до операции во всех группах определялась в пределах от $72,3 \pm 2,9$ до $74,1 \pm 3,3$ нг/мл. Спустя 3 суток после проведения комбинированного остеосинтеза наблюдалось увеличение данного фермента в первой опытной группе на 22,0%, во второй опытной группе на 4,7% в сравнении с контрольной.

Через две недели установили, что в первой опытной группе данный показатель составил $139,3 \pm 5,3$ нг/мл когда во второй опытной группе $110,2 \pm 3,7$ нг/мл в контрольной группе $97,2 \pm 0,6$ нг/мл. Это обусловлено наличием у модифицированного покрытия такого активнорействующего вещества как nSe. При недостатке селена в организме снижается синтез ГПО, что приводит к уменьшению её активности. Разница в уровне ГПО между второй опытной и контрольной группами обуславливается наличием активнорействующих веществ в оригинальном покрытии, улучшающими регенераторные функции организма. Это в свою очередь снижает развитие окислительного стресса, истощающий ГПО.

В период с 14 и до 42 суток в первой опытной группе концентрация ГПО продолжает расти, достигая своего пика к 42 суткам ($210,1 \pm 12,9$ нг/мл), что выше значений, полученных от 2й опытной ($184,2 \pm 9,9$ нг/мл) и контрольной ($156,7 \pm 0,9$ нг/мл) групп на 14,0 и 34,0% соответственно.

В период с 42 и до 56 суток в первой опытной группе отмечается стабилизация концентрации ГПО на уровне $209,7 \pm 14,6$ нг/мл. В этот же период во второй опытной и контрольной группах концентрация ГПО увеличена незначительно (на 1,7% и 3,6%), что также говорит о её стабилизации.

Согласно таблице 21 уровень МДА до операции во всех группах превышал референсные значения (2-4 нмоль/мл) и составлял ($6,6 \pm 0,09$; $6,9 \pm 0,07$; $6,3 \pm 0,12$ нмоль/мл соответственно для 1, 2 и 3 группы), что характеризуется высвобождением свободных радикалов и активных форм кислорода (АФК) после получения травмы. АФК, в свою очередь, атакуют липидные мембраны клеток,

запуская процесс перекисного окисления липидов, конечным продуктом которого является МДА.

3-и сутки установили максимальные значения данного показателя во всех группах ($7,0 \pm 0,11$; $7,2 \pm 0,14$; $7,1 \pm 0,17$ нмоль/мл соответственно для 1, 2 и 3 группы), что определенно ятрогенным воздействием на макро и микроорганизм.

Начиная с 14-х суток, в первой опытной группе, определён вектор на снижение и стабилизацию данного показателя, к 42-м суткам ($2,6 \pm 0,02$ нмоль/мл). В тоже время стабилизация МДА во второй опытной группе установлена к 42-м суткам ($2,5 \pm 0,04$ нмоль/мл). В контрольной группе зафиксирована тенденция возвращения к референсу, однако, в связи с ограниченными временными рамками исследования так и не удалось зафиксировать стабилизацию.

Анализ результатов данных показателей установил, что применение модифицированного (nSe) покрытия для имплантов способствует быстрому снижению уровня МДА за счет способности селена нейтрализовать свободные радикалы и активные формы кислорода (АФК), которые являются основными причинами окислительного стресса и перекисного окисления липидов (ПОЛ).

Также наличие селена поддерживает функционирование ГПО за счет за счёт включения в её структуру в виде селеноцистеина, который является ключевым компонентом активного центра фермента. Селеноцистеин обеспечивает каталитическую активность ГПО, позволяя ей эффективно нейтрализовать перекиси и защищать клетки от окислительного повреждения.

2.2.4. Сравнительная характеристика оригинального и модифицированного покрытия наночастицами селена (nSe) для имплантатов

Согласно действующей классификации (ГОСТ 12.1.007-76), в ходе оценки острой токсичности исходного и модифицированного наночастицами селена (nSe) покрытия установлен 3 класс опасности – «умеренно опасные вещества». Данная классификация основана на величине ЛД₅₀, определенной по методу Финни.

Данное покрытие, согласно стандарта ГОСТ ISO 10993-10–2011, обладает слабовыраженной ответной реакцией кожного покрова лабораторных животных

при оценке раздражающего действия. При этом модифицированное покрытие показало слабую реакцию, купирующаяся самостоятельно в течение 24-48 часов и относится к категории «не обладающие аллергизирующим действием».

Использование оригинального и модифицированного наночастицами селена (nSe) остеопластического биокomпозиционного покрытия для имплантов на экспериментальных и клинических животных показало:

1. Отсутствие септических осложнений, воспалительных, апластических, аллергических и токсических реакций со стороны макро- и микроорганизма.

2. Отсутствие грануляционных составляющих, костных спаек, пониженной костной плотности, остеопорозных участков и, напротив, завершённый процесс репаративного остеогенеза на рентгенологическом и гистологическом уровнях.

3. Цитокиновый профиль у собак при использовании оригинального и модифицированного наночастицами селена (nSe) остеопластического биокomпозиционного покрытия для имплантов достоверных отличий не выявил на всем протяжении исследования. Разница между максимальными показателями по времени в опытных и контрольной группах составляет 14 суток.

4. При оценке времени на консолидацию трубчатых костей собак (плечевая, бедренная, большеберцовая кости) при использовании оригинального и модифицированного наночастицами селена (nSe) остеопластического биокomпозиционного покрытия для имплантов достоверных отличий не выявлено на всем протяжении наблюдения. Однако, при использовании модифицированного покрытия сокращается время консолидации переломов на 35,7-43,1% в сравнении с контрольной группой.

5. Уровень окислительного стресса у собак, при применении оригинального и модифицированного наночастицами селена (nSe) покрытия для имплантов установил достоверные отличия по ГПО, к 14 суткам разница данного показателя составила 26,4%, к 28 суткам – 25,0%, к 42 суткам – 14,0%, к 56 суткам – 11,9%. При анализе уровня МДА в первой опытной группе отмечается более ранняя стабилизация (14 и 42 сутки соответственно).

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Ветеринарная травматология является важным направлением в современной ветеринарной медицине, особенно в условиях мегаполисов, где высокая плотность населения и интенсивная урбанизация создают специфические условия для жизни домашних животных (Н.А. Башкатов, 2000; Ю.А. Ватников, 2004; В.В. Анников, 2006).

Несмотря на развитие ветеринарной медицины, методы лечения травм, особенно сложных переломов, не всегда обеспечивают быстрое и полное восстановление. Это связано с особенностями репаративного остеогенеза (процесса восстановления костной ткани), который у животных может протекать медленнее или с осложнениями (И.Ф. Болаташвили, 1985; Ю.А. Ватников, 2004; В.В. Анников, 2006, 2016).

Современные достижения в области биотехнологий, материаловедения и фармакологии открывают новые возможности для совершенствования методов лечения травм. Исследования в области репаративного остеогенеза, включая использование покрытий для стимуляции регенерации, может значительно улучшить результаты лечения (С.М. Баринов, 2005; Н.А. Башкатова, 2005; Г.Н. Берченко, 2009, 2010; Т.Б. Бухарова, 2013; В.В. Бочкарёв, 2015).

Разработка многофункционального покрытия на основе синергии гидроксиапатита, метилурацила, амоксициллина, наночастиц селена и полилактида представляет собой перспективное направление в области биоматериалов для применения в ветеринарной травматологии. При этом, каждый из компонентов покрытия играет важную роль, обеспечивая комплексный эффект, направленный на ускорение регенерации тканей, предотвращение инфекций и улучшение биосовместимости.

Гидроксиапатит является основным минеральным компонентом костной ткани, что делает его необходимым компонентом покрытия для стимуляции остеогенеза с высокими свойствами биосовместимости и остеокондуктивности. Данный компонент используется в качестве каркаса для доставки активных веществ (амоксициллин, наночастицы селена, метилурацил) (С.М. Баринов, 2005;

А.М. Аронов, 2010; А.А. Гринь, 2010; Ю.М. Ирьянов, 2014 В.В. Бочкарев, 2015; В.И. Апанасевич, 2020).

Метилурацил является стимулятором регенерации тканей, который ускоряет процессы клеточного деления и синтеза белка, обладающий противовоспалительным действием, снижая риск осложнений и улучшающий микроциркуляцию в области повреждения, что способствует более эффективной доставке питательных веществ и кислорода (Т.А. Белоусова, 2011).

Амоксициллин является антибиотиком широкого спектра действия (пенициллиновый ряд), необходимый для предотвращения бактериальных инфекций широкого спектра, снижая риск развития послеоперационных инфекций и остеомиелита (В.И. Веденин, 2019).

Наночастицы селена (Se) обладают антиоксидантными и иммуномодулирующими свойствами, снижая окислительный стресс в области повреждения, ускоряя процессы заживления и усиливая действие амоксициллина (К.Д. Скоринова, 2020).

Полилактид ((C₃H₄O₂)_n) является биоразлагаемым полимером для основы покрытий или каркасов, обеспечивающий механическую прочность и структурную поддержку в процессе регенерации (А.В. Волков, 2005).

На основе данных компонентов создано оригинальное биоконпозиционное покрытие (патент №2817049), однако нами принято решение о его модификации наночастицами селена (nSe) для создания не только остеоиндуктивного, остеокондуктивного, антибактериального, регенераторного, но и антиоксидантного эффекта.

Модифицированное покрытие содержит: гидроксиапатит – 1,0 г, метилурацил – 1,0 г, амоксициллин – 0,05 г, полилактид – 3,5 г, раствор наночастиц селена - концентрат стабилизированных наночастиц селена (nSe) размером 1-2 нм.

При изучении общетоксических свойств установлено, что при пероральном введении белым инбредным мышам среднесмертельная доза для

модифицированного остеопластического биоконпозиционного покрытия составила $4101,91 \pm 1460,44$ мг/кг.

Согласно ГОСТу 12.1.007-76 исследуемое покрытие отнесено к 3 классу опасности на основании значений средней летальной дозы (LD_{50}). Результаты испытаний в соответствии с ГОСТ ISO 10993-10–2011 модифицированное (nSe) покрытие имплантов обладает слабовыраженным раздражающим эффектом на кожные покровы и незначительной реакцией со стороны слизистых оболочек у лабораторных животных. Дополнительные исследования в рамках указанного стандарта подтвердили отсутствие у покрытия алергизирующих свойств.

Нами изучена терапевтическая остеорепаративная активность, модифицированного наночастицами селена (nSe) покрытия для имплантов, на клинических животных ($n=54$). Установлено отсутствие воспалительной, септической, аллергической, апластической, гепатотоксической и нефротоксической реакций на гематологическом уровне (С.Н. Лунева, 2010; В.С. Клоков, Д.А. Артемьев, 2022, 2025).

Рентгенологически определяется отсутствие грануляционных составляющих, костных спаек, пониженной костной плотности, остеопорозных участков у оперированных животных (В.С. Клоков, 2025), а согласно гистологическому исследованию, в области имплантации модифицированного остеопластического покрытия наблюдалась сформированная костная ткань, имеющая характерную структуру зрелой кости, представленная классическими остеонами, которые включали кровенаполненные каналы Гаверса и Фолькмана. Концентрически расположенный костный матрикс со вставочными пластинками и равномерно распределёнными остеоцитами указывает на завершённость процессов ремоделирования и формирования функционально активной костной ткани и совпадает с мнением Д.А. Коробейниковой (2019) (И.В. Зирук, 2022; В.С. Клоков, 2025).

Применение модифицированного остеопластического биоконпозиционного покрытия, на клинических животных (собаки), способствует раннему повышению (на 14 сутки) и стабилизации цитокинов (ФНО- α VEGF) в сравнении с контролем,

что совпадает с точкой зрения В.В. Анникова (2006) (Д.А. Артемьев, В.С. Клоков, 2024).

Умеренное повышение уровня ФНО- α на ранних этапах свидетельствует об активации процессов костной резорбции, связанных с повышением образования зрелых остеокластов и увеличением численности прекурсоров остеокластов в костном мозге, что указывает на активное вовлечение иммунных механизмов в процессы ремоделирования костной ткани.

Повышение уровня VEGF свидетельствует об усилении процессов васкуляризации и ангиогенеза в области восстановления костной ткани. Это способствует улучшению перфузии и снабжения восстанавливаемых тканей кислородом и питательными веществами, что является важным фактором для успешной регенерации.

При изучении окислительного стресса в ответ на травму выявлено, что в группе животных, где применялось модифицированное покрытие наночастицами селена, показало наибольшую эффективность в снижении окислительного стресса (уровень МДА). Стоит отметить, что применение nSe, оказывающие антиоксидантное действие, влияет на уровень малонового диальдегида (МДА), снижая его концентрацию в сыворотке крови. Это связано со способностью антиоксидантов нейтрализовать свободные радикалы и активные формы кислорода (АФК), которые являются основными причинами окислительного стресса и перекисного окисления липидов (ПОЛ), что коррелирует с данными И.В. Говрюшиной (2010).

При исследовании ГПО, с учётом применения модифицированного покрытия, установлена более высокая, стабильная концентрация к 42 суткам.

Данный процесс обусловлен протекцией клеток от окислительного повреждения за счёт наличия аминокислоты – селеноцистеина, что поддерживает оптимальную концентрацию ГПО для восстановления перекисей липидов и перекиси водорода. Из-за отсутствия антиоксидантного компонента в контрольной группе, установлено минимальное значение ГПО в связи с усиленным образованием свободных радикалов, приводящее к истощению

антиоксидантной системы, в связи, с чем физиологическим механизмам регуляции требуется больше времени для, возвращения уровня ГПО к референсным значениям.

Стоит отметить, что в группе с оригинальным покрытием, уровень ГПО был значительно ниже (на 26,4%) по сравнению с модифицированным покрытием к 14 суткам, однако, превышал значения контрольной группы с тенденцией к более быстрому восстановлению за счёт наличия метилурацила и его регенераторных свойств.

На основании клинико-морфологических исследований нами установлено сокращение времени на консолидацию переломов (на 35,7-43,1%), в сравнении с пациентами без использования разработки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате выполнения диссертационной работы мы пришли к следующим выводам:

1. Модифицированное (nSe) покрытие для имплантов содержит в качестве активнордействующих веществ: гидроксиапатит, метилурацил, амоксициллин; вспомогательное вещество – полилактид; растворитель – хлороформ; антиоксидантный компонент – стабилизированные наночастицы селена.

Ускоряет сращение переломов, в частности:

- на бедренной кости до 36,4%;
- на голени до 43,6%;
- на плечевой кости до 40,0%.

2. Результаты доклинических исследований демонстрируют, что модифицированное (nSe) покрытие обладает умеренной токсичностью (3-й класс опасности).

Среднесмертельная доза (LD_{50}) исследуемого модифицированного покрытия составляет $4101,91 \pm 1460,44$ мг/кг, согласно классификации ГОСТ 12.1.007-76.

Результаты оценки токсичности модифицированного покрытия свидетельствуют о его благоприятных профилях безопасности и переносимости. В соответствии с требованиями ГОСТ ISO 10993-10–2011 установлен индекс общего раздражения кожных покровов, составивший $0,33 \pm 0,04$, что соответствует незначительной степени раздражающего воздействия.

Изучение воздействия на слизистую оболочку глаза выявило следующие параметры раздражения слизистой оболочки глаза: средние значения показателей составили $4,4 \pm 0,55$ балла для гиперемии конъюнктивы, $2,1 \pm 1,81$ балла для отека век и $2,3 \pm 1,43$ балла для выделений из глаз. Полученные данные демонстрируют умеренную реакцию со стороны слизистой оболочки зрительного анализатора.

Комплексная оценка аллергизирующих и местно-раздражающих свойств исследуемого покрытия позволяет сделать вывод о наличии слабовыраженного

раздражающего действия на слизистую оболочку глаза при полном отсутствии сенсibiliзирующей активности. Представленные результаты соответствуют критериям безопасности для материалов медицинского назначения.

3. На основании клинических исследований установлено то, что модифицированное биокomпозиционное покрытие:

- не оказывает угнетающего действия на гемо- и эритропoeз. Уровень эритроцитов (RBC) у животных первой опытной группы до операции составлял $6,83 \pm 0,2 \times 10^{12}/л$, а по завершению исследования $6,78 \pm 0,2 \times 10^{12}/л$. Показатели гемоглобина (HGB) также оставались в пределах физиологической нормы: до операции $141,5 \pm 9,3 г/л$, после $137,8 \pm 9,3 г/л$. Уровень гематокрита (HCT) до начала исследования составлял $34,2 \pm 1,5\%$, а по его окончании $47,1 \pm 3,1\%$.

- не оказывает угнетающего действия на функцию печени. Активность аланинаминотрансферазы (ALAT) на третьи сутки составляла $32,7 \pm 3,1 Е/л$, на четырнадцатые сутки $41,0 \pm 3,9 Е/л$, а на двадцать восьмые сутки $32,7 \pm 2,8 Е/л$. Уровень общего билирубина также оставался в пределах нормы: на третьи сутки $5,4 \pm 0,4 ммоль/л$, на четырнадцатые сутки $7,4 \pm 0,5 ммоль/л$, на двадцать восьмые сутки $6,7 \pm 0,5 ммоль/л$.

- не оказывает негативного влияния на функцию почек. Уровень креатинина на третьи сутки составлял $80,1 \pm 6,4 ммоль/л$, на четырнадцатые сутки – $90,7 \pm 8,5 ммоль/л$, а на двадцать восьмые сутки $83,1 \pm 6,7 ммоль/л$. Показатели мочевины также оставались стабильными: на третьи сутки $7,2 \pm 0,6 ммоль/л$, на четырнадцатые сутки $9,4 \pm 0,8 ммоль/л$, на двадцать восьмые сутки $6,7 \pm 0,4 ммоль/л$.

4. На основании клинических исследований установлено то, что модифицированное биокomпозиционное покрытие:

- способствует консолидации спустя 31–35 дней с момента операции, что подтверждено рентгенологически, с отсутствием выраженной костной мозоли.

- способствует формированию костной ткани, имеющую характерную структуру зрелой кости, представленную классическими остеонами, что подтверждено гистологически.

5. На основании клинических исследований установлено то, что модифицированное покрытие:

- характеризует максимальное повышение уровня ФНО- α к 3 суткам после остеосинтеза ($1,32 \pm 0,08$ пкг/мл).

- характеризует максимальное повышение уровня VEGF к 28 суткам после остеосинтеза ($79,32 \pm 6,32$ пкг/мл).

6. На основании клинических исследований установлено то, что модифицированное покрытие:

- способствует снижению уровня МДА в 2,5 раз к 28 суткам ($2,6 \pm 0,02$ нмоль/мл), по сравнению с данными полученными до операции.

- способствует поддержке уровня ГПО к 42 суткам ($210,1 \pm 12,9$ нг/мл).

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

Осуществляя хирургическую помощь в сфере травматологии, животным-компаньонам в качестве прагматизации репаративного остеогенеза рекомендуется применять имплантаты с модифицированным наночастицами селена (nSe) покрытием в связи с его остеокондуктивными, остеоиндуктивными, антиоксидантными, регенераторными и антибактериальными свойствами.

РЕКОМЕНДАЦИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Дальнейшие изыскания, тесно связанные с научной проблематикой диссертационного исследования, ориентированы на создание гидроксиапатитных покрытий для имплантатов, интегрированных с антимикробными препаратами широкого спектра активности и расширением области применения.

Такие покрытия будут обеспечивать направленное бактерицидное воздействие на специфических возбудителей, вызывающих септические осложнения и технологически адаптироваться для лечения различных типов переломов, включая сложные и многооскольчатые, а также для применения в условиях остеопороза и других патологий костной ткани.

Результаты, полученные в ходе оптимизации процессов репаративного остеогенеза благодаря использованию модифицированных покрытий для имплантатов, обладают значительным потенциалом для внедрения в практику ветеринарной стоматологии и травматологии.

Они могут быть успешно применены для лечения мелких непродуктивных животных, а также других видов животных и птиц, что расширит возможности восстановления костной ткани и снизит риски инфекционных осложнений.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АВФ – аппарат внешней фиксации

АФК – активные формы кислорода

ГА – гидроксиапатит

ГПО – глутатионпероксидаза

ИВЛ – искусственная вентиляция легких

ИЛ-1 β – интерлейкин 1 бета

ИФА – иммуноферментный анализ

МДА – малоновый диальдегид

ММСК – мезенхимальные мультипотентные стволовые клетки

ПТОА – посттравматический остеоартрит

РА – ревматоидный артрит

РА – ревматоидный артрит

РРО – рецепторы распознавания образов

СОД – супероксиддисмутаза

ФНО- α – фактор некроза опухолей

АЛАТ – аланинаминотрансфераза

АЛВ – альбумин

АЛКР – щелочная фосфатаза

АО/ASIF – универсальная классификация переломов

AOVET – классификация переломов длинных костей по АО

АСАТ – аспартатаминотрансфераза

BAFF – активирующий фактор В-клеток

Chol – холестерин

Cre – креатенин

DAMPs – молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждением

GGTP – гаммаглутамилтрансферазы

Glob – глобулин

GLU – глюкоза

GRA# – абсолютное содержание гранулоцитов

GRA% – относительное (%) содержание гранулоцитов

HCT (hematocrit) – гематокрит

HGB (Hb, hemoglobin) – гемоглобин, концентрация в цельной крови

Ig – иммуноглобулин

IgE – иммуноглобулин E

IGF – инсулиноподобный фактор роста

IgF-1 – инсулиноподобный фактор роста-1

IL – интерлейкин

LYM# (LY#) (lymphocyte) – абсолютное содержание лимфоцитов

LYM% (LY%) (lymphocyte) – относительное содержание лимфоцитов

MCH – среднее содержание гемоглобина в отдельном эритроците

MCHC – средняя концентрация гемоглобина в эритроците

MCV –средний объем эритроцита

MID# – абсолютное содержание смеси моноцитов, базофилов и эозинофилов

MID% – относительное содержание смеси моноцитов, базофилов и эозинофилов

MPV (mean platelet volume) – средний объем тромбоцитов

nSe – наночастицы селена

PCT (platelet crit) – тромбокрит

PDGF – тромбоцитарный фактор роста

PDW – относительная ширина распределения тромбоцитов по объёму

P-LCR – коэффициент больших тромбоцитов

PLT (platelets – кровяные пластинки) – тромбоциты в абсолютных числах

RBC (red blood cells – красные кровяные тельца) – эритроциты в абсолютных числах

RDW-CV – относительная ширина распределения эритроцитов по объёму

RDW-SD – относительная ширина распределения эритроцитов по объёму

SVF – стромально-васкулярная фракция

TBil – общий билирубин

TGF – трансформирующий фактор роста

TGF- β – трансформирующий фактор роста бета

Th – Т-хелперные клетки

TNF – фактор некроза опухоли

TP – общий белок

Urea – мочеви́на

VEGF – фактор роста эндотелия сосудов

VEGF – фактор роста эндотелия сосудов

WBC (white blood cells – белые кровяные тельца) – лейкоциты в абсолютных числах

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абуджазар, У. М. Хронический остеомиелит и его клинико-иммунологическая характеристика / У. М. Абуджазар [и др.] // Вестник КазНМУ. – 2014. – № 1. – С. 246-248.
2. Азаматов, Б. Н. Оценка антибактериальных свойств монослойных покрытий Cu-Nb и Cu-Ta на биомедицинском сплаве Ti-6Al-4V / Б. Н. Азаматов, А. А. Борисов, А. В. Джес, Б. Маратулы // Traumatology and Orthopaedics of Kazakhstan. – 2024. – Vol. 71(1). – P. 14–20. DOI: 10.52889/1684-9280-2024-1-71-14-20.
3. Анатомия собаки и кошки / колл. авторов; пер. с нем. Е. Болдырева, И. Кравец. – 2-е изд., испр. – Москва: Аквариум Принт, 2014. – 580 с.
4. Анников, В. В. Анатомо-хирургические аспекты оптимизации репаративного остеогенеза трубчатых костей в условиях внешней фиксации аппаратами стержневого типа : дис. ... д-ра вет. наук : 06.02.01 / Анников Вячеслав Васильевич. – Саратов, 2006. – 309 с. – EDN YNTBPN.
5. Анников, В. В. Ошибки и осложнения при проведении внешней стержневой фиксации отломков трубчатых костей / В. В. Анников // Актуальные вопросы ветеринарной хирургии : материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. Дню рос. науки. – Омск : Омский ГАУ, 2016. – С. 15–18.
6. Апанасевич, В. И. Дисперсный биокомпозит на основе волластонита/гидроксиапатита: остеопластический потенциал с точки зрения рентгенологии / В. И. Апанасевич, Е. К. Папынов, И. С. Афонин [и др.] // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2020. – № 3. – С. 88–89. – DOI: 10.34215/1609-1175-2020-3-88-89.
7. Ардашев, И. П. Современное состояние вопроса о костнопластических материалах, стимулирующих остеогенез / И. П. Ардашев, С. В. Черницов, И. Ю. Веретельникова [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. – 2011. – № 4. – С. 161–165.
8. Артемьев, Д. А. Биохимическая оценка гепатобилиарной системы мелких непродуктивных животных (собак) при использовании

остеопластического покрытия для имплантов / Д. А. Артемьев, С. В. Козлов, В. С. Клоков, А. С. Клокова // Актуальные проблемы ветеринарной медицины, пищевых и биотехнологий : материалы Междунар. науч.-практ. конф. / под ред. В. В. Строгова. - Саратов : Вавиловский ун-т, 2024. - С. 16-20.

9. Артемьев, Д. А. Влияние биоконпозиционного покрытия имплантов на клинико-биохимические показатели крови собак / Д. А. Артемьев, С. В. Козлов, В. С. Клоков, Д. А. Бугаенко // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2022. – № 6 (98). – С. 212-219.

10. Артемьев, Д. А. Влияние остеопластического покрытия для имплантов на цитокиновую систему (ИЛ-1, ИЛ-6) собак / Д. А. Артемьев, С. В. Козлов, В. С. Клоков, А. С. Клокова // Актуальные проблемы ветеринарной медицины, пищевых и биотехнологий : материалы Междунар. науч.-практ. конф. / под ред. В. В. Строгова. - Саратов : Вавиловский ун-т, 2024. - С. 8-11.

11. Артемьев, Д. А. Воздействие разработанного остеопластического покрытия для имплантов на цитокиновую систему (ФНО- α , VEGF) собак / Д. А. Артемьев, С. В. Козлов, В. С. Клоков, А.С. Клокова // Актуальные проблемы ветеринарной медицины, пищевых и биотехнологий: Материалы Международной научно-практической конференции / под редакцией В.В. Строгова. – Саратов: Вавиловский университет, 2024. – С. 11-16.

12. Артемьев, Д. А. Воздействие разработанного остеопластического покрытия для имплантов на выделительную систему мелких непродуктивных животных / Д. А. Артемьев, С. В. Козлов, В. С. Клоков, А.С. Клокова // Актуальные проблемы ветеринарной медицины, пищевых и биотехнологий: Материалы Международной научно-практической конференции / под редакцией В.В. Строгова. – Саратов: Вавиловский университет, 2024. – С. 38-43.

13. Артемьев, Д. А. Гематобиохимический статус собак при использовании биоконпозиционного покрытия имплантов для ускорения консолидации костной ткани / Д. А. Артемьев, С. В. Козлов, В. С. Клоков, Д. А. Бугаенко // Научная жизнь. – 2023. № 2 (128). –С.283-296.

14. Артемьев, Д. А. Гистологические исследования биопсийного материала костной ткани животных при использовании остеопластического биоконпозиционного покрытия имплантов, ускоряющего консолидацию / Д. А. Артемьев, С. В. Козлов, И.В. Зирук, В. С. Клоков, Я.Е. Ярош // Аграрный научный журнал. – 2023. – № 10. – С. 87-93.

15. Артемьев, Д. А. Гистоморфологическое изучение костной структуры птиц при использовании биоконпозиционного покрытия имплантов / Д. А. Артемьев, И.В. Зирук, Я.Б. Древко, Я.Е. Ярош // Научная жизнь. – 2023. – № 5 (131). С. 795–804.

16. Артемьев, Д. А. Динамика клинико-биохимических показателей крови животных при применении спиц с инновационным остеопластическим биоконпозиционным покрытием для восстановления костной ткани / Д. А. Артемьев, В. С. Клоков, Д.Д. Лёвошкина, Д. А. Бугаенко // Научная жизнь. – 2022. – № 2. – С. 270-281.

17. Артемьев, Д. А. Инновационное остеопластическое биоконпозиционное покрытие спиц для ускорения консолидации переломов костей домашних животных / Д. А. Артемьев, С. В. Козлов, В. С. Клоков, Д.А. Бугаенко, А.С. Салыпчук // Актуальные проблемы ветеринарной медицины, пищевых и биотехнологий: Материалы Международной научно-практической конференции / под редакцией В.В. Строгова. – Саратов: Саратовский ГАУ, 2022. – 164 – 171 с.

18. Артемьев, Д. А. Клинический случай использования разработанного остеопластического покрытия для имплантов при огнестрельном ранении в ветеринарной практике / Д. А. Артемьев, С. В. Козлов, В. С. Клоков, С. О. Шерепера // Технологические инновации и научные открытия : сб. тр. по материалам XVIII Междунар. конкурса науч.-исслед. работ (21 июля 2024 г., г. Уфа). – Уфа : НИЦ "Вестник науки", – 2024. – С. 15-20.

19. Артемьев, Д. А. Консолидация переломов костей собак и кошек / Д. А. Артемьев, С. В. Козлов, С.О. Лоцинин, А.В. Егунова // Научная жизнь. – 2021. – № 6. – С. 735-742.

20. Артемьев, Д. А. Консолидация переломов мелких непродуктивных животных / Д. А. Артемьев, С. В. Козлов, В. С. Клоков, Д. А. Бугаенко // E-Scio [Электронный ресурс]: Электронное периодическое издание «E-Scio.ru» – Эл № ФС77-66730

21. Артемьев, Д. А. Нейромышечная реабилитация мелких непродуктивных животных / Д. А. Артемьев, С. В. Козлов, С. О. Шерепера // Технологические инновации и научные открытия : сб. тр. по материалам XVIII Междунар. конкурса науч.-исслед. работ (21 июля 2024 г., г. Уфа). – Уфа : НИЦ "Вестник науки", – 2024. – С. 21-28.

22. Артемьев, Д. А. Основная концепция остеогенеза костной ткани собак и кошек / Д. А. Артемьев, С. В. Козлов, В. С. Клоков, Д. А. Бугаенко // E-Scio [Электронный ресурс]: Электронное периодическое издание «E-Scio.ru» – Эл № ФС77-66730

23. Артемьев, Д. А. Особенности процесса консолидации костной ткани собак и кошек (обзор литературы) / Д. А. Артемьев, С. В. Козлов, В. С. Клоков, Д.А. Бугаенко, А.С. Салыпчук // От модернизации к опережающему развитию: обеспечение конкурентоспособности и научного лидерства АПК. Актуальные проблемы ветеринарной медицины: Сборник статей международной научно-практической конференции, Екатеринбург, 24–25 марта 2022 года. – Екатеринбург: Уральский государственный аграрный университет, 2022. – С. 11-14.

24. Артемьев, Д. А. Особенности развития, роста и строения костей собак и кошек / Д. А. Артемьев, С. В. Козлов, С.О. Лощинин, А.В. Егунова // Научная жизнь. – 2021. – № 7. – С. 896-907.

25. Артемьев, Д. А. Оценка клинико-биохимического крови собак с учетом применения остеобиокомпозита для ускорения консолидации / Д. А. Артемьев, С. В. Козлов, В. С. Клоков, Д. А. Бугаенко // Научная жизнь. – 2022. – № 6. – С. 1006-1017

26. Артемьев, Д. А. Результат воздействия разработанного остеопластического биоконпозиционного покрытия для имплантов на

цитокиновый профиль собак (ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО- α , VEGF) / Д. А. Артемьев, С. В. Козлов, В. С. Клоков, С. О. Шерепера // Технологические инновации и научные открытия : сб. тр. по материалам XVIII Междунар. конкурса науч.-исслед. работ (21 июля 2024 г., г. Уфа). – Уфа : НИЦ "Вестник науки", – 2024. – С. 29-36.

27. Артемьев, Д. А. Рентгенография костной ткани лабораторных животных при применении имплантов с разработанным остеопластическим покрытием / Д. А. Артемьев, С. В. Козлов, В. С. Клоков, С. О. Шерепера // Технологические инновации и научные открытия : сб. тр. по материалам XVIII Междунар. конкурса науч.-исслед. работ (21 июля 2024 г., г. Уфа). – Уфа : НИЦ "Вестник науки", – 2024. – С. 37-43.

28. Артемьев, Д. А. Рентгенологическое исследование костей птиц при остеосинтезе имплантатами с биокомпозиционным покрытием в эксперименте / Д. А. Артемьев, С. В. Козлов, Я.Б. Древко, А.Д. Клюкина // Научная жизнь. – 2023. – № 4 (130). – С. 613-625.

29. Артемьев, Д. А. Рентгеноморфологические аспекты сращения лучевой кости животных при использовании спиц с биокомпозиционным покрытием / Д. А. Артемьев, С. В. Козлов, В. С. Клоков, Д. А. Бугаенко // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2022. – №5 (97). – С. 190-196.

30. Артемьев, Д. А. Рентгеноморфологические особенности консолидации перелома лучевой кости собак при интрамедуллярном остеосинтезе спицами с биокомпозиционным покрытием / Д. А. Артемьев, С. В. Козлов, В. С. Клоков, Д. А. Бугаенко // Научная жизнь. – 2022. – № 4. – С. 599-610.

31. Артемьев, Д. А. Рентгеноморфологический анализ костной структуры при использовании остеопластического покрытия для имплантов у мелких непродуктивных животных / Д. А. Артемьев, С. В. Козлов, В. С. Клоков, А.С. Клокова // Актуальные проблемы ветеринарной медицины, пищевых и биотехнологий: Материалы Международной научно-практической конференции / под редакцией В.В. Строгова. – Саратов: Вавиловский университет, – 2024. – С. 48-54.

32. Артемьев, Д. А. Факторы консолидации костной ткани собак и кошек / Д. А. Артемьев, С. В. Козлов, В. С. Клоков, Д. А. Бугаенко // E-Scio [Электронный ресурс]: Электронное периодическое издание «E-Scio.ru» – Эл № ФС77-66730.

33. Артемьев, Д. А. Филогенетические особенности организации, роста и формирования костей собак и кошек / Д. А. Артемьев, С. В. Козлов, В. С. Клоков, Д. А. Бугаенко // E-Scio [Электронный ресурс]: Электронное периодическое издание «E-Scio.ru» – Эл № ФС77-66730.

34. Артемьев, Д. А. Филогенетические свойства организации, роста и образования костей собак и кошек (обзор литературы) / Д. А. Артемьев, С. В. Козлов, В. С. Клоков, Д.А. Бугаенко, А.С. Салыпчук // От модернизации к опережающему развитию: обеспечение конкурентоспособности и научного лидерства АПК. Актуальные проблемы ветеринарной медицины: Сборник статей международной научно-практической конференции, Екатеринбург, 24–25 марта 2022 года. – Екатеринбург: Уральский государственный аграрный университет, – 2022. – С. 15-20.

35. Артемьев, Д. А. Цитокиновый профиль экспериментальных животных при применении интрамедуллярных имплантов с биокомпозиционным покрытием / Д. А. Артемьев, С. В. Козлов, В. С. Клоков // Вестник аграрной науки. – 2023. – № 6(105). – С. 56-64.

36. Афиногенов, Г.Е. Антимикробные полимеры / Г.Е. Афиногенов, Е.Ф. Панарин // СПб.: Гиппократ. – 1993. – 263 с.

37. Ахмедов, Ш. М. Экспериментально-морфологическое исследование костнопластических материалов, предназначенных для хирургического лечения ЛОР-патологии / Ш. М. Ахмедов, Л. А. Мусина, Е. З. Кочарян, А. Ю. Рябов, М. В. Лекишвили // Гены и клетки. – 2015. – №1. – С. 41-47.

38. Ахтямов, И. Ф. Морфологическое исследование локального влияния имплантатов с покрытиями на основе сверхтвердых соединений на костную ткань в условиях индуцированной травмы / И. Ф. Ахтямов, В. А. Шакирова, Э. Б. Гатина, Манирамбона Ж. К., Алиев Э. И. // Гений ортопедии. – 2015. – № 1. – С. 65-70.

39. Бабоша, В. А. Ауто-аллопластика при повреждениях и заболеваниях костей конечности / В. А. Бабоша, Е. Г. Сирота, Ю. Г. Юртовец // Сб. тез. Биоимплантология на пороге XXI века, 2001. – С. 56-57.

40. Баитова, М. И. Рентгенодиагностика заболеваний костей у домашних животных / М. И. Баитова // Молодежь и наука – 2021. Ветеринария: Сборник статей. – Екатеринбург: Уральский государственный аграрный университет, 2021. – С. 5-8.

41. Баринов, С. М. Биокерамика на основе фосфатов кальция / С. М. Баринов, В. С. Комлев. – М. : Наука, – 2005. – 204 с.

42. Башкатова, Н. А. Рациональные способы лечения и стимуляции остеосинтеза у собак при переломах трубчатых костей : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 16.00.02 / Башкатова Наталья Александровна. - Воронеж, 2000. - 21 с.

43. Белохвостикова, Т. С. Иммунологический контроль воспаления и регенерации костной ткани / Т. С. Белохвостикова, Ю. С. Винник, С. Н. Леонова. - Новосибирск : Наука, 2009. - 160 с.

44. Бердюгина, О. В. Иммунологические критерии прогнозирования замедленной консолидации костной ткани / О. В. Бердюгина, К. А. Бердюгин // Травматология и ортопедия России. – 2009. – № 2 (52). – С. 59-66.

45. Берченко, Г. Н. Биоконпозиционный наноструктурированный препарат Коллапан в инжиниринге костной ткани / Г. Н. Берченко // Сборник работ 5-го научно-практического семинара «Искусственные материалы в травматологии и ортопедии». Москва, 2009. – С. 7-13.

46. Берченко, Г. Н. Применение биоконпозиционного наноструктурированного препарата Коллапан и обогащенной тромбоцитами аутоплазмы в инжиниринге костной ткани / Г. Н. Берченко, Г. А. Кесян, Д. С. Микелаишвили // Травма. – 2010. – № 1. – С. 7-14.

47. Биоконпозиты на основе фторполимеров с гидроксиапатитом для интрамедуллярных имплантатов / А. М. Аронов, Е. Н. Больбасов, В. В. Гузеев [и др.] // Медицинская техника. – 2010. – № 3. – С. 35-41.

48. Болаташвили, И. Ф. Влияние артериальной и венозной недостаточности на сращение переломов длинных трубчатых костей / И.Ф. Болаташвили // Хирургия. – 1985. – № 5. – С. 72-74.

49. Болаташвили, И. Ф. Особенность репаративной регенерации при нарушениях кровоснабжения (Экспериментальное исследование) / И. Ф. Болаташвили // Ортопед, травматолог и протезир. – 1985. – № 10. – С. 51-54.

50. Бочкарев, В. В. Применение материала для замещения костной ткани на основе гидроксиапатита при оперативном лечении собак "карликовых" пород с переломами костей предплечья / В. В. Бочкарев, В. Н. Виденин, Т. В. Дружинина // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2015. – № 3. – С. 118-122.

51. Бровкин С. В., Зорохович О. Д., Капинский Б. М., Клименко Б. М., Рубин Г. Г. особенности иммунной защиты организма после закрытых диафизарных переломов костей голени // Сборник тезисов IX съезда травматологов-ортопедов России. 2010. Том I. – С. 103-104.

52. Бухарова, Т. Б. Индукция остеогенной дифференцировки мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани человека / Л. В. Логовская, А. В. Волков, Е. Б. Вихрова, О. В. Махнач, Д. В. Гольдштейн // Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2013. – № 1. – С. 28-33.

53. Бухарова, Т. Б. Тканеинженерная конструкция на основе мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани, полилактидных носителей и тромбоцитарного геля / Т. Б. Бухарова А. В. Волков, Е. Н. Антонов, Е. Б. Вихрова, А. В. Попова, В. К. Попов, Д. В. Гольдштейн // Гены и клетки. – 2013. – № 4. – С. 61-68

54. Бычков, А. И. Изучение остеоиндуктивной активности рекомбинантного морфогенетического белка кости (rhBMP-2) в составе остеопластического материала на основе деминерализованного матрикса в эксперименте / А. И. Бычков, А. В. Волков, О. А. Рачинская // Стоматология для всех. – 2013. – № 3. – С. 16-20.

55. В. И. Николаев, С. И. Кириленко, В. В. Рожин, Н. Г. Мальцева, Н. Н. Веялкина, И. С. Войсаров, И. А. Войсарова // Проблемы здоровья и экологии. – 2021. – №18(3). – С. 94-104. DOI: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2021-18-3-12>.

56. Ваза А. Ю, Боровкова НВ, Макаров М. С, Файн А. М, Пономарев И. Н Стимуляция остеогенеза инъекционной формой трансплантата из коллагена 1 типа и богатой тромбоцитами плазмы в эксперимент. Гены и Клетки. – 2017. – №(3). – С. 53-54.

57. Ватников, Ю. А. Организация репаративного остеогенеза животных. Экспериментальные и клинические исследования: Монография. / Ю. А. Ватников. - М.: 2004. – 146 с.

58. Ватников, Ю. А. Структурная и функциональная организация репаративного остеогенеза у животных (экспериментальные и клинические исследования) текст: Дис.док.вет. наук / Ю. А. Ватников 2004. – 38 с.

59. Виденин, В. И. О некоторых аспектах применения антисептиков, антибиотиков и средств иммунокоррекции при хирургических инфекциях у животных / В. И. Виденин, А. Я. Батраков, Б. С. Семенов, А. Ю. Нечаев // Материалы V-го Международного конгресса ветеринарных фармакологов и токсикологов «Эффективность и безопасность лекарственных средств в ветеринарии» / СПб.: гос. акад. ветеринарной медицины. – Санкт-Петербург, 2019. – С. 34-37.

60. Виноградова, Т. П. Регенерация и пересадка костей / Т. П. Виноградова, Г. И. Лаврищева. – М. : Медицина, 1974. – 274 с.

61. Волков, А. В. К вопросу о безопасности остеопластических материалов / А. В. Волков // Вестник травматологии и ортопедии им. Н. Н. Приорова. – 2015. – № 1. – С. 46-51.

62. Волков, А. В. Синтетические биоматериалы на основе полимеров органических кислот в тканевой инженерии / А. В. Волков // Гены и клетки. – 2005. – № 2. – С. 43-45

63. Волков, А. В. Тканевая инженерия: новые перспективы развития медицины / Волков А. В. // Гены и клетки. – 2005. – № 1. – С. 57.

64. Гатиатуллин, И. З. Особенности репаративных гистогенезов в процессе комплексного лечения обширной гнойной раны кожи с применением композита "ЛИТАР" / И.З. Гатиатуллин, А. А. Третьяков, С. Б. Фадеев, С. В. Петров, Н.Н . Шевлюк // Морфология. – 2019. – Т. 155. – № 2. – С. 77.

65. Говрюшина И.В. Состояние антиоксидантной системы, иммунитета и продуктивность ягнят при введении их матерям различных соединений селена: дис. канд. 03.03.01-физиология. - Боровск, 2010. – 141 с.

66. Гордина, Е. М. Антибактериальные свойства комплексов оксидов различных металлов в отношении *Pseudomonas aeruginosa* и их цитосовместимость / Е. М. Гордина, С. А. Божкова, Д. В. Лабутин [и др.] // Бактериология. – 2023. – Т. 8, № 2. – С. 42-48. – DOI: 10.20953/2500-1027-2023-2-42-48.

67. Гринь, А. А. Использование имплантатов, покрытых гидроксиапатитом, в лечении повреждений костей таза / А. А. Гринь, К. С. Сергеев, Л. Б. Козлов // Фундаментальные исследования. – 2010. – № 10. – С. 95-99. – EDN NAWWDJ.

68. Гришин, И. Г. Пластика обширных дефектов длинных костей васкуляризованными малоберцовыми трансплантатами / И. Г. Гришин, В. Г. Голубев, М. М., Крошкин, Богдашевский Д. Р., Голубев В. В., Полотнянко В. Н. // Вестник травматол. ортопед. – 2001. – № 2. – С. 61-65.

69. Деев, Р. В. Клеточные технологии в травматологии и ортопедии: пути развития / Р. В. Деев, А. А. Исаев, А. Ю. Кочиш, Р. М. Тихилов // Гены и клетки. – 2007. – №4. – С. 18-30.

70. Деев, Р. В. Ординарные и активированные остеопластические материалы / Р. В. Деев, А. Ю. Дробышев, И. Я. Бозо // Вестник травматологии и ортопедии имени Н. Н. Приорова. – 2015. – № 1. – С. 51-69.

71. ДеКамп, Чарльз Э. Ортопедия и лечение переломов у мелких домашних животных: руководство / Чарльз Э. ДеКамп // Изд.5-е.-Санкт-Петербург: Бальф, 2022. – 892 с.

72. Денисова, А. А. Использование композиционных материалов в комплексном лечении переломов костей у кошек / А. А. Денисова, Е. П. Циулина, А. Н. Безин // В сборнике: Проблемы и пути развития ветеринарной и зоотехнической наук. Материалы Международной научно-практической конференции обучающихся, аспирантов и молодых ученых, посвященной памяти заслуженного деятеля науки, доктора ветеринарных наук, профессора кафедры "Болезни животных и ветеринарно-санитарная экспертиза" Колесова Александра Михайловича. Саратов, 2021. – С. 52-56.

73. Драке, Р. Б. Стимуляция репаративного остеогенеза стружкой аллогенного костного матрикса / Р. Б. Драке, А. К. Муйжулис // Вестник хирургии им. Грекова. – 1983. – Т. 131, № 8. – С. 60-63.

74. Егиазарян, К. А. Ранние результаты изучения репаративных особенностей различных костнопластических материалов в экспериментально созданных костных дефектах / К. А. Егиазарян, Г. Д. Лазишвили, К. И. Акматалиев, А. П. Эттингер, А. П. Ратьев, А. В. Волков, Г. В. Коробушкин, М. Д. Поливода // Вестник травматологии и ортопедии им. Н. Н. Приорова. – 2017. – № 2. – С. 40-47

75. Житлова, Е. А. Этапная количественная оценка репаративного остеогенеза при индуцированной травме / Е. А. Житлова, Ф. В. Шакирова, И. Ф. Ахтямов // Ветеринарный врач. – 2015. – № 6. – С. 54-58.

76. Зирук, И. В. Сравнительный морфологический аспект изучения костей домашних и диких животных / И. В. Зирук, М. Е. Копчекчи, А. В. Егунова, А. В. Тарасова // Аграрная наука. – 2022. – № 5. – С. 18-21.

77. Иванов, А. В. Опыт применения культивируемых аутологичных соединительнотканых клеток костного мозга в клинике детской ортопедии / А. В. Иванов, В. К. Ильина, О. В. Кожевников, Н. П. Омеляненко // Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии. Сборник тезисов VII Всероссийского симпозиума с международным участием. – 2017. – С. 206-208.

78. Изосимова, А. Э. Сравнительная количественная оценка репаративного процесса в костной и параоссальных тканях при имплантации спиц с покрытием

нитридами титана и гафния в эксперименте / А. Э. Изосимова // Ветеринарный врач. – 2016. – № 1. – С. 22-28.

79. Ирьянов, Ю. М. Заживление перелома в условиях интрамедуллярного введения спиц с покрытием из гидроксиапатита / Ю. М. Ирьянов, Н. А. Кирьянов, А. В. Попков // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2014. – Т. 69. № 7-8. – С. 127-132. – EDN SNHYEX.

80. Казакова, В. С. Перспективы использования факторов роста в восстановлении костной ткани : обзор литературы / В. С. Казакова, О. О. Новиков, Е. Т. Жиликова // Научные результаты биомедицинских исследований. – 2015. – Т. 1, – № 3. – С. 151-158.

81. Каспарова С., Брезова В., Валко М., Хорецки Й., Млинарик В. и др.: Исследование окислительного стресса на модели хронической гипоперфузии головного мозга у крыс. *Neurochem Int.* – 2005. – № 46. – С. 601-611. 10.1016/j.neuint.2005.02.006.

82. Кирилова, И. А. Различные виды костно- пластических материалов для восстановления костной структуры / И. А. Кирилова, В. Т. Подорожная, И. П. Ардашев, С. В. Черницов // Политравма. – 2008. – №4. – С. 60–64.

83. Кирсанов, Д. В. Современные покрытия имплантатов в травматологии и ортопедии. Анализ экспериментальных и клинических исследований (обзор литературы) / Д. В. Кирсанов, В. А. Кирсанов, С. Я. Пичхидзе // Современные вопросы биомедицины. – 2024. – Т. 8, – № 4(30). – DOI 10.24412/2588-0500-2024_08_04_34. – EDN AEPDTF.

84. Клеточно-молекулярные аспекты иммунологической совместимости имплантатов с наноструктурным кальций-фосфатным покрытием / И. А. Хлусов, М. А. Сурменева, Н. В. Рязанцева [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2012. – № 4. – С. 78-85.

85. Клоков В.С. Воздействие модифицированного наночастицами селена (nSe) остеопластического покрытия для имплантов на цитокиновую систему (ФНО- α , VEGF) собак / Д.А. Артемьев, В.С. Клоков, С.В. Логинов // Международная научно-практическая конференция «Проблемы и пути развития

ветеринарной и зоотехнической наук», посвященная 100-летию со дня рождения Заслуженного деятеля науки СССР, доктора ветеринарных наук, профессора кафедры «Болезни животных и ветеринарно-санитарная экспертиза» Тарасова Ивана Ивановича, 24-25 апреля 2025 г. / ФГБОУ ВО Вавиловский университет. – 2025. – С. 436-441.

86. Клоков В.С. Гематологические показатели крови при использовании оригинального и модифицированного наночастицами селена (nSe) биосовместимого остеопластического покрытия у целевых животных (собаки) / Д.А. Артемьев, В.С. Клоков, В.Э. Медведев // Международная научно-практическая конференция «Проблемы и пути развития ветеринарной и зоотехнической наук», посвященная 100-летию со дня рождения Заслуженного деятеля науки СССР, доктора ветеринарных наук, профессора кафедры «Болезни животных и ветеринарно-санитарная экспертиза» Тарасова Ивана Ивановича, 24-25 апреля 2025 г. / ФГБОУ ВО Вавиловский университет. – 2025. – С. 442-450.

87. Клоков В.С. Клинический случай использования, модифицированного наночастицами селена (nSe) остеопластического покрытия для имплантов при переломе бедренной кости у собаки / Д.А. Артемьев, В.С. Клоков, А.С. Калинина, А.Д. Артемьева // Международная научно-практическая конференция «Проблемы и пути развития ветеринарной и зоотехнической наук», посвященная 100-летию со дня рождения Заслуженного деятеля науки СССР, доктора ветеринарных наук, профессора кафедры «Болезни животных и ветеринарно-санитарная экспертиза» Тарасова Ивана Ивановича, 24-25 апреля 2025 г. / ФГБОУ ВО Вавиловский университет. – 2025. – С. 407-413.

88. Клоков, В.С. Применение покрытия спиц с наночастицами селена при переломах у собак / В.С. Клоков, Д.А. Артемьев // Актуальные вопросы сельскохозяйственной биологии. – 2025. – № 3(37). – С. 5-10.

89. Конев, В. А. Динамика тканевых изменений при одно- и двухэтапном лечении хронического остеомиелита с использованием биорезорбируемого материала, импрегнированного ванкомицином (сравнительное экспериментально-морфологическое исследование) / В. А. Конев, С. А. Божкова, В. В. Трушников,

Л. О. Анисимова, Г. И. Нетылько, Д. Г. Парфеев // Гены и клетки. – 2021. – № 1. – С. 29-36.

90. Конев, В. А. Экспериментальное обоснование клинического применения стимуляторов остеогенеза в травматологии и ортопедии (обзор литературы) / В. А. Конев, Д. В. Лабутин, С. А. Божкова // Сибирское медицинское обозрение. – 2021. – № 4. – С. 5-17. DOI: 10.20333/250001.36-2021-4-5-17

91. Коробейникова Д.А. Клинико-морфологические особенности репаративного остеогенеза в условиях применения ионов лантаноидов: автореф. дис. ... канд. наук: 06.02.04 / Коробейникова Дарья Александровна; [Место защиты: Казанская академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана]. – Казань, 2019. – 153 с.

92. Коршунова, Е. Ю. Иммунологический контроль гомеостаза костной ткани / Е. Ю. Коршунова, Т. С. Белохвостикова, Л. А. Дмитриева // Политравма. – 2011. – № 1. – С. 82-85.

93. Коршунова, Е. Ю. Цитокиновая регуляция метаболизма костной ткани / Е. Ю. Коршунова, Л. А. Дмитриева, В. Ф. Лебедев // Политравма. – 2012. – № 3. – С. 82-86. – EDN PDYXSV.

94. Котельников, Г. П. Остеопороз: руководство / Г. П. Котельников, С. В. Булгакова // М.: ГЭОТАР- Медиа. – 2010. – 512 с.

95. Красников, А. В. Комплексная оценка остеорепаративных и интегративных процессов при имплантации у животных / А. В. Красников, Е. С. Красникова // Вестник алтайского государственного аграрного университета. – 2020. – № 2. – С. 89-95. – EDN NISBNP.

96. Красников, А. В. Цитокиновый профиль сыворотки крови и десневой жидкости собак при установке имплантатов / А. В. Красников, В. В. Анников // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2017. – № 2. – С. 90-94.

97. Кувикова, Е. С. Диагностика и лечение переломов у мелких домашних животных с помощью рентгенографии / Е. С. Кувикова, Д. А. Васильева, М. И. Гилемханов // Инновационные научные исследования в современном мире:

Сборник трудов по материалам X Всероссийского конкурса научно-исследовательских работ, Уфа, 28 ноября 2022 года. Том Часть 1. – Уфа: Общество с ограниченной ответственностью "Научно-издательский центр "Вестник науки", 2022. – С. 36-39.

98. Луговик, И. А. Токсикологические исследования. Референтные интервалы массовых коэффициентов внутренних органов на выборке в 1000 аутбредных крыс / И. А. Луговик, М. Н. Макарова // Лабораторные животные для научных исследований. – 2021. – № 1. – С.3-11

99. Лукьяновский, В. А. Болезни костной системы животных / В. А. Лукьяновский, А. Д. Белов, И. М. Беляев // М.: Колос. – 1984. – 253 с

100. Лунева, С. Н. Биохимические показатели в оценке репаративного остеогенеза у пациентов с различными типами скелетной травмы / С. Н. Лунева, Е. А. Ткачук, М. В. Стогов // Гений ортопедии. – 2010. – № 1. – С. 112-115.

101. Магнетронное напыление на подложки из титанового сплава медных пленок с антибактериальными свойствами по отношению к псевдомонадам и стафилококку / Б. Н. Азаматов, Д. Л. Алонцева, А. А. Борисов [и др.] // Вестник Восточно-Казахстанского государственного технического университета им. Д. Серикбаева. – 2022. – № 3. – С. 40-51. – DOI: 10.51885/1561-4212_2022_3_40.

102. Малахов, О.А. Актуальность применения стимуляторов остеогенеза на современном этапе / О.А. Малахов, А.В. Иванов, В.И. Татаренков // Матер. XXV научно-практической конференции детских ортопедов- травматологов. - М. 2002. – С.55-56.

103. Марков, Д. А. К вопросу о стимуляции репаративного остеогенеза / Д. А. Марков, Ван Кай, К. К. Левченко // Аспирантские чтения материалы межрегиональной конференции – Саратов, 2008 – С 177

104. Марков, Д. А. Комплексный подход к проблеме оптимизации репаративного остеогенеза / Д. А. Марков, К. К. Левченко, Ван Кай // Аспирантские чтения Материалы межрегиональной конференции – Саратов, 2008 – С 177

105. Марков, Д. А. Оптимизация репаративного остеогенеза /Д. А Марков, К. К. Левченко, Ван Кай //Аспирантские чтения Материалы межрегиональной конференции – Саратов, 2008 – С 176
106. Марков, Д. А. Оптимизация репаративного остеогенеза с помощью биоматериала аллогшант // К. К. Левченко, Ван Кай, Д. А. Марков // Молодые ученые - здравоохранению региона Материалы 67-й весенней научно-практической конференции студентов и молодых специалистов СГМУ – Саратов, 2006 – С 294.
107. Мортелларо, К. М. Ортопедия собак. Атлас «ВОА». Диагностический подход с учетом породной предрасположенности / К. М. Мортелларо, М. Петаццони, А. Вещони // Пер. с итальянского А. Кухарской / Под редакцией И. Вилковыского. – М.: Издательство Аквариум, 2017. – 104 с.
108. Морфофункциональная характеристика системного воздействия имплантатов с покрытием на основе сверхтвердых соединений / И. Ф. Ахтямов, Ф. В. Шакирова, А. Р. Яруллин [и др.] // Гений ортопедии. – 2019. – № 3. – С. 324-325. DOI: 10.18019/1028-4427-2019-25-3-324-329.
109. Морфофункциональное состояние регионарных лимфатических узлов в условиях интрамедуллярного остеосинтеза фиксаторами с покрытием на основе сверхтвердых соединений / И. Ф. Ахтямов, Э. Б. Гатина, Ф. В. Шакирова [и др.] // Травматология и ортопедия России. – 2014. – Т. 72. – № 2. – С. 78-84.
110. Москалёв, А. В. Инфекционная иммунология / А.В. Москалёв, В. Б. Сбойчиков // СПб.: Фолиант – 2009. – 177 с.
111. Морфологическая и рентгенологическая характеристика регенерации костной ткани в эксперименте / Э. А. Надыров, В. И. Николаев, С. И. Кириленко [и др.] // Проблемы здоровья и экологии. – 2021. – Т. 18, № 3. – С. 94-104. – DOI 10.51523/2708-6011.2021-18-3-12. – EDN ZURJOV.
112. Новое антибактериальное покрытие на основе смеси полиуретана с поли-L-лактидом / Д. В. Тапальский, Н. Ю. Бойцова, В. А. Осипов [и др.] // Доклады Национальной академии наук Беларуси. – 2013. – Т. 57. – № 4. – С. 89-95.

113. Нуруллина, Г. М. Костное ремоделирование в норме и при первичном остеопорозе: значение маркеров костного ремоделирования / Г. М. Нуруллина, Г. И. Ахмадуллина // Архивъ внутренней медицины. – 2018. – Т. 8, № 2. – С. 100-110. – URL: <https://doi.org/10.20514/2226-6704-2018-8-2-100-110>

114. Орлов, А. А. Влияние трансплантации аутогенных мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани на течение остеогенетического процесса (экспериментальное исследование) / А. А. Орлов, И. Н. Сабурова, С. Д. Сысоев, А. С. Григорьян // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2014. – Т. 58, – № 1. – С. 3-7.

115. Остеоинтеграция имплантатов с алмазоподобным углеродным покрытием в условиях эксперимента / В. Б. Макаров, Н. В. Дедух, О. А. Никольченко [и др.] // Новости хирургии. – 2020. – Т. 28. – № 6. – С. 617-624.

116. Оценка антибактериальных свойств монослойных покрытий Cu-Nb и Cu-Ta на биомедицинском сплаве Ti-6Al-4V / Б. Н. Азаматов, А. А. Борисов, А. В. Джес, Б. Маратулы // Traumatology and Orthopaedics of Kazakhstan. – 2024. – Vol. 71(1). – P. 14-20. DOI: 10.52889/ 1684-9280-2024-1-71-14-20

117. Перифокальные реакции мягких тканей на введение контаминированных имплантатов с композиционным антибактериальным покрытием: экспериментальное исследование / О. П. Савчук, Д. В. Тапальский, Д. А. Зиновкин [и др.] // Травматология и ортопедия России. – 2023. – Т. 29. – № 1. – С. 36-45. DOI: 10.17816/2311-2905-2000.

118. Попков, А. В. Биосовместимые имплантаты в травматологии и ортопедии (обзор литературы) / А. В. Попков // Гений ортопедии. – 2014. – № 3. – С. 94-99.

119. Попова, А. А. Биосовместимые покрытия на титановые импланты из порошковых механокомпозицтов: гидроксипатит кальция – никелид титана, полученные методом детаноционно – газового напыления / А. А. Попова, В. И. Яковлев // Ползуновский вестник. – 2017 – №1.

120. Предеин, Ю. А. Костные и клеточные импланты для замещения дефектов кости / Ю. А. Предеин, В. В. Рерих // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 6.

121. Проблемы биосовместимости металлических имплантатов для остеосинтеза: покрытия на основе нитридов титана и гафния / Е. В. Круглова, В. А. Патрикеев, В. А. Ведин [и др.] // Молекулярная медицина. – 2017. – Т. 15. – № 4. – С. 50-57.

122. Рентгеноморфологические особенности консолидации перелома диафиза большеберцовой кости при интрамедуллярном остеосинтезе спицами с покрытием из гидроксиапатита / А. В. Попков, Д. А. Попков, К. А. Дьячков [и др.] // Гений ортопедии. – 2015. – № 1. – С. 23-29.

123. Родин, И. А, Киселёв И. Г, Вишнинецкая Л. П, Родин М. И. Стимуляция остеорегенерации с помощью PRP-терапии. Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2018. – № 3. – С. 186-190.

124. Роль цитокиновой системы RANKL/RANK/OPG в регуляции минерального обмена костной ткани / Д. С. Аганов, В. В. Тыренко, Е. Н. Цыган и др. // Гены и клетки. – 2014. – № 4. – С. 50-52. EDN YRWLDR.

125. Саидов М. З. DAMP-опосредованное воспаление и регулируемая гибель клеток при иммуновоспалительных ревматических заболеваниях // Медицинская иммунология. – 2023. – Т. 25, № 1. – С. 7-38. – DOI: <https://doi.org/10.15789/1563-0625-DMI-2557>.

126. Смирнов, А. В. Строение и функции костной ткани в норме и при патологии. Сообщение I / А. В. Смирнов, А. Ш Румянцев. // Нефрология. – 2014. – № 18 (6). – С. 9-25. EDN TCVPTN

127. Сравнительная характеристика процессов остеоинтеграции имплантатов с кальцийфосфатным покрытием и имплантатов с кальцийфосфатными покрытиями, обогащенными германием / Е. А. Зеличенко, В. В. Гузеев, Я. Б. Ковальская [и др.] // Вестник травматологии и ортопедии им. Н. Н. Приорова. – 2017. – № 4. – С. 38-42.

128. Сравнительное исследование костного регенерата после остеосинтеза переломов шейки бедренной кости биоинертными и биоактивными имплантатами с кальцийфосфатным покрытием (экспериментальное исследование) / К. С. Казанин, А. В. Басов, М. С. Шпаковский [и др.] // Травматология и ортопедия России. – 2015. – Т. 77. – № 3. – С. 51-60

129. Тамакова, В. П. Иммунологические критерии прогноза гнойно-септических осложнений в послеоперационном периоде / В. П. Тамакова, Г. В. Черепнев // Практическая медицина. – 2011 – № 55 – С.122-124

130. Чернигова, С. В. Сравнительная оценка применения методов, влияющих на регенерацию костной ткани / С. В. Чернигова, П. В. Шестакова, Е. С. Дочилова // Современные тенденции развития ветеринарной науки и практики: Сборник материалов Всероссийской (национальной) научно- практической конференции, Омск, 25–29 апреля 2022 года. – Омск: Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина, 2022. – С. 525-529.

131. Щаницын, И. Н. Современные концепции стимуляции регенерации костной ткани с использованием биологически активных скаффолдов / И. Н. Щаницын, А. Н. Иванов, В. Ю. Ульянов, И. А. Норкин // Цитология. – 2019. – Т. 61, – № 1. – С. 16-34

132. Экспериментальная оценка композиционного материала на основе белково-минеральных компонентов и рекомбинантного костного морфогенетического белка-2 в качестве покрытия титановых имплантатов / М. З. Федорова, С. В. Надеждин, А. С. Семихин [и др.] // Травматология и ортопедия России. – 2011. – Т. 60. – № 2. – С. 101-106.

133. Экспериментальное обоснование аллоплантной катализации репаративного остеогенеза / О. В. Бейдик, Ван Кай, К. К. Левченко, Д. А. Марков // Современные методы лечения больных с травмами и их осложнениями : материалы Всерос. науч.-практ. конф. – Курган, 2006. – С. 198.

134. Adamopoulos, I. E. Immune regulation of bone loss by Th17 cells / I. E. Adamopoulos, E. P. Bowman // Arthritis Research & Therapy. – 2008. – Vol. 10, No 5. – P. 225. – DOI: 10.1186/ar2502.

135. Adamopoulos, I. E. Interleukin-17A upregulates receptor activator of NF-kappaB on osteoclast precursors / I. E. Adamopoulos [et al.] // *Arthritis Research & Therapy*. – 2010. – Vol. 12. – P. R29. – DOI: 10.1186/ar2936.
136. Adeel, S. Bone loss in surgically ovariectomized premenopausal women is associated with T Lymphocyte activation and thymic hypertrophy / S. Adeel [et al.] // *Journal of Investigative Medicine*. – 2013. – Vol. 61. – P. 1178-1185.
137. Aghajanian, P. The art of building bone: emerging role of chondrocyte-to-osteoblast transdifferentiation in endochondral ossification / P. Aghajanian, S. Mohan // *Bone Research*. – 2018. – Vol. 6, No 1. – P. 19. – DOI: 10.1038/s41413-018-0021-z.
138. Ahern, D. J. The role of Natural Killer cells in the pathogenesis of rheumatoid arthritis: major contributors or essential homeostatic modulators? / D. J. Ahern, F. M. Brennan // *Immunology Letters*. – 2011. – Vol. 136. – P. 115-121.
139. Antiadhesive and antibiofilm activity of hyaluronic acid against bacteria responsible for respiratory tract infections / L. Drago [et al.] // *APMIS*. – 2014. – Vol. 122. – P. 1013-1019. – DOI: 10.1111/apm.12254.
140. Arthur JR: The glutathione peroxidases. *Cell Mol Life Sci*. – 2000, – № 57. – P. 1825-1835.
141. Bacterial Biofilm Formation on Biomaterials and Approaches to Its Treatment and Prevention / P. Li [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 24, No 14. – P. 11680. – DOI: 10.3390/ijms241411680.
142. Bolzoni, M. IL21R expressing CD14+CD16+ monocytes expand in multiple myeloma patients leading to increased osteoclasts / M. Bolzoni [et al.] // *Haematologica*. – 2017. – Vol. 102, No 4. – P. 773-784.
143. Boyce, B. F. Osteoclasts have multiple roles in bone in addition to bone resorption / B. F. Boyce, Z. Yao, L. Xing // *Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression*. – 2009. – Vol. 19. – P. 171-180.
144. Brunetti, G. LIGHT/TNFSF14 increases osteoclastogenesis and decreases osteoblastogenesis in multiple myeloma-bone disease / G. Brunetti [et al.] // *Oncotarget*. – 2014. – Vol. 5, No 24. – P. 12950-12967.

145. Brunetti, G. T cells support osteoclastogenesis in an in vitro model derived from human periodontitis patients / G. Brunetti [et al.] // *Journal of Periodontology*. – 2005. – Vol. 76. – P. 1675-1680.
146. Champagne, C. M. Macrophage cell lines produce osteoinductive signals that include bone morphogenetic protein-2 / C. M. Champagne [et al.] // *Bone*. – 2002. – Vol. 30. – P. 26-31.
147. Chang, M. K. Osteal tissue macrophages are intercalated throughout human and mouse bone lining tissues and regulate osteoblast function in vitro and in vivo / M. K. Chang [et al.] // *Journal of Immunology*. – 2008. – Vol. 181. – P. 1232-1244.
148. Chazaud B. Inflammation and Skeletal Muscle Regeneration: Leave It to the Macrophages! // *Trends Immunol.* – 2020. – Vol. 41, № 6. – P. 481–492. – DOI: <https://doi.org/10.1016/j.it.2020.04.006>.
149. Chen, X. Osteoblast-osteoclast interactions / X. Chen [et al.] // *Connective Tissue Research*. – 2018. – Vol. 59, No 2. – P. 99-107.
150. Chu FF, Doroshow JH, Esworthy RS: Expression, characterization, and tissue distribution of a new cellular selenium-dependent glutathione peroxidase, GSHPx-GI. *J Biol Chem*. 1993, 268: 2571-2576.
151. Cloutier, M. Antibacterial coatings: Challenges, perspectives, and opportunities / M. Cloutier, D. Mantovani, F. Rosei // *Trends in Biotechnology*. – 2015. – Vol. 33. – P. 637-652. – DOI: 10. 1016/j. tibtech. 2015. 09. 002.
152. Crotti, T. N. Receptor activator NF- κ B ligand (RANKL) expression in synovial tissue from patients with rheumatoid arthritis, spondyloarthropathy, osteoarthritis, and from normal patients: semiquantitative and quantitative analysis / T. N. Crotti [et al.] // *Annals of the Rheumatic Diseases*. – 2002. – Vol. 61, No 12. – P. 1047-1054.
153. Dougall, W. C. RANK is essential for osteoclast and lymph node development / W. C. Dougall [et al.] // *Genes & Development*. – 1999. – Vol. 13. – P. 2412-2424.

154. Dupuy C, Virion A, Ohayon R, Kaniewski J, Dème D, Pommier J: Mechanism of hydrogen peroxide formation catalyzed by NADPH oxidase in thyroid plasma membrane. *J Biol Chem.* 1991, 266: 3739-3743.
155. Ehrbar, M. Cell-demanded liberation of VEGF121 from fibrin implants induces local and controlled blood vessel growth / M. Ehrbar [et al.] // *Circulation Research.* – 2004. – Vol. 94, No 8. – P. 1124-1132. – DOI: 10. 1161/01. RES. 0000126411. 29641. 08.
156. Feng, S. Interleukin-15-activated natural killer cells kill autologous osteoclasts via LFA-1, DNAM-1 and TRAIL, and inhibit osteoclast-mediated bone erosion in vitro / S. Feng [et al.] // *Immunology.* – 2015. – Vol. 145. – P. 367-379.
157. Gbejuade, H. O. The role of microbial biofilms in prosthetic joint infections / H. O. Gbejuade, A. M. Lovering, J. C. Webb // *Acta Orthopaedica.* – 2015. – Vol. 86. – P. 147-158. – DOI: 10. 3109/17453674. 2014. 966290.
158. Gothard, D. Tissue engineered bone using select growth factors: a comprehensive review of animal studies and clinical translation studies in man / D. Gothard [et al.] // *European Cells and Materials.* – 2014. – Vol. 28. – P. 166-207. – DOI: 10. 22203/eCM. v028a13.
159. Gowen, M. Actions of recombinant human gamma-interferon and tumor necrosis factor alpha on the proliferation and osteoblastic characteristics of human trabecular bone cells in vitro / M. Gowen, B. R. MacDonald, R. G. Russel // *Arthritis & Rheumatism.* – 1988. – Vol. 31. – P. 1500-1507.
160. Granger DN: Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol.* 1988, 255: H1269-H1275.
161. Haber F, Weiss JJ: The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by iron salts. *Proc R Soc Lond Ser A.* 1934, 147: 332-351. 10.1098/rspa.1934.0221.
162. Halliwell B, Gutteridge JMC: *Free Radicals in Biology and Medicine.* 1999, New York: Oxford University Press, 3
163. Hu, K. Osteoblast-derived VEGF regulates osteoblast differentiation and bone formation during bone repair / K. Hu, B. Olsen // *Journal of Clinical Investigation.* – 2016. – Vol. 126, No 2. – P. 509-526. – DOI: 10. 1172/JCI82585.

164. Interleukin-6 signalling as a valuable cornerstone for molecular medicine / M. Trovato [et al.] // International Journal of Molecular Medicine. – 2021. – Vol. 47, No 6. – P. 107. – DOI: 10.3892/ijmm.2021.4940.
165. Ishikawa, K. Physical and Histological Comparison of Hydroxyapatite, Carbonate Apatite, and β -Tricalcium Phosphate Bone Substitutes / K. Ishikawa [et al.] // Materials. – 2018. – Vol. 11, No 10. – P. 1993. – DOI: 10.3390/ma11101993.
166. Ivanovic, D. V. IL-17 stimulates the production and expression of proinflammatory cytokines, IL-beta and TNF-alpha, by human macrophages / D. V. Ivanovic [et al.] // Journal of Immunology. – 1998. – Vol. 160. – P. 3513-3521.
167. Jörg DJ, Fuerstinger DH, Cherif A, Bushinsky DA, Mermelstein A, Raimann JG, Kotanko P. Modeling osteoporosis to design and optimize pharmacological therapies comprising multiple drug types. Elife. 2022;11:9.
168. Kim, Y. G. Human CD4+CD25+ regulatory T cells inhibit the differentiation of osteoclasts from peripheral blood mononuclear cells / Y. G. Kim [et al.] // Biochemical and Biophysical Research Communications. – 2007. – Vol. 357. – P. 1046-1052.
169. Kirkman HN, Rolfo M, Ferraris AM, Gaetani GF: Mechanisms of protection of catalase by NADPH. Kinetics and stoichiometry. J Biol Chem. 1999, 274: 13908-13914. 10.1074/jbc.274.20.13908.
170. Koga, T. Costimulatory signals mediated by ITAM motif cooperate with RANKL for bone homeostasis / T. Koga [et al.] // Nature. – 2004. – Vol. 428. – P. 758-763.
171. Krenn V., Morawietz L., Burmester G. R., Häupl T. Synovialitis-Score: Histopathologisches Graduierungsschema rheumatischer und nicht-rheumatischer Synovialitiden // Z Rheumatol. – 2005. – Bd. 64, № 5. – S. 334–342. – DOI: <https://doi.org/10.1007/s00393-005-0704-x>. – Нем.
172. Kukreja RC, Hess ML: The oxygen free-radical system: from equations through membrane-protein interactions to cardiovascular injury and protection. Cardiovasc Res. 1992, 26: 641-655. 10.1093/cvr/26.7.641.

173. Kulcharyk PA, Heinecke JW: Hypochlorous acid produced by the myeloperoxidase system of human phagocytes induces covalent cross-links between DNA and protein. *Biochemistry*. 2001, 40: 3648-3656. 10.1021/bi001962l.

174. Leach, J. K. Materials-Directed Differentiation of Mesenchymal Stem Cells for Tissue Engineering and Regeneration / J. K. Leach, J. Whitehead // *ACS Biomaterials Science & Engineering*. – 2018. – Vol. 4, No 4. – P. 1115-1127. – DOI: 10.1021/acsbiomaterials.6b00741.

175. Liu PL, Diao JY, Wang Q, Liu H, Zhang Y, Liang JQ, Zhang F, Liang XJ, Zhao HM. Cartilage damage pathological characteristics of diabetic neuropathic osteoarthropathy. *Anal Cell Pathol*. 2023;2023:7573165.

176. Liu, H. "Osteoimmunology" offers new perspectives for the treatment of pathological bone loss / H. Liu [et al.] // *Current Pharmaceutical Design*. – 2017. – Vol. 23, No 41. – P. 6272-6278.

177. Liu, S. LIPUS inhibited the expression of inflammatory factors and promoted the osteogenic differentiation capacity of hPDLs by inhibiting the NF- κ B signaling pathway / S. Liu [et al.] // *Journal of Periodontal Research*. – 2020. – Vol. 55, No 1. – P. 125-140. – DOI: 10.1111/jre.12696.

178. Luthringer, B. J. Magnesium-based implants: A mini-review / B. J. Luthringer, F. Feyerabend, R. Willumeit-Römer // *Magnesium Research*. – 2014. – Vol. 27. – P. 142-154.

179. Majrashi M, Kotowska A, Scurr D, Hicks JM, Ghaemmaghami A, Yang J. Sustained release of dexamethasone from 3D-printed scaffolds modulates macrophage activation and enhances osteogenic differentiation. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2023;15:56623–38.

180. Manabe, N. Connection between B lymphocyte and osteoclast differentiation pathways / N. Manabe [et al.] // *Journal of Immunology*. – 2001. – Vol. 167. – P. 2625-2631.

181. Marcacci, M. Stem cells associated with macroporous bioceramics for long bone repair: 6- to 7-year outcome of a pilot clinical study / M. Marcacci [et al.] // *Tissue Engineering*. – 2007. – Vol. 13, No 5. – P. 947-955. – DOI: 10.1089/ten.2006.0271.

182. Marnett LJ: Lipid peroxidation--DNA damage by malondialdehyde. *Mutat Res.* 1999, 424: 83-95. 10.1016/S0027-5107(99)00010-X.

183. Ochiai, H. Inhibition of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) expression by prolonged transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) administration suppresses osteoblast differentiation / H. Ochiai [et al.] // *The Journal of Biological Chemistry*. – 2012. – Vol. 287, No 27. – P. 22654-22661. – DOI: 10. 1074/jbc. M111. 279091.

184. Oryan, A. Bone regenerative medicine: classic options, novel strategies, and future directions / A. Oryan, S. Alidadi, A. Moshiri, N. Maffulli // *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*. – 2014. – Vol. 9, No 1. – P. 18. – DOI: 10. 1186/1749-799X-9-18.

185. Potential antibacterial mechanism of silver nanoparticles and the optimization of orthopedic implants by advanced modification technologies / Y. Qing [et al.] // *International Journal of Nanomedicine*. – 2018. – Vol. 13. – P. 3311-3327. – DOI: 10. 2147/IJN. S165125.

186. Quarto, R. Repair of large bone defects with the use of autologous bone marrow stromal cells / R. Quarto [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2001. – Vol. 344, No 5. – P. 385-386. – DOI: 10. 1056/NEJM2001020134405.

187. Robust coupling of angiogenesis and osteogenesis by VEGF-decorated matrices for bone regeneration / M.G. Burger [et al.] // *Acta Biomaterialia*. – 2022. – Vol. 149. – P. 111-125. – DOI: 10.1016/j.actbio.2022.07.014.

188. Silver-loaded nanotubular structures enhanced bactericidal efficiency of antibiotics with synergistic effect in vitro and in vivo / N. Xu, H. Cheng, J. Xu [et al.] // *International Journal of Nanomedicine*. – 2017. – Vol. 12. – P. 731-743. – DOI: 10.2147/IJN.S123648.

189. Thin magnesium layer confirmed as an antibacterial and biocompatible implant coating in a co-culture model / S. Zaatreh [et al.] // *Molecular Medicine Reports*. – 2017. – Vol. 15, No 4. – P. 1624-1630. – DOI: 10.3892/mmr.6218.

190. Tidball J. G. Regulation of muscle growth and regeneration by the immune system // *Nat Rev Immunol*. – 2017. – Vol. 17, № 3. – P. 165–178. – DOI: <https://doi.org/10.1038/nri.2016.150>.

191. Track, A. Biomaterials and biocompatibility / S. Zaatreh [et al.] // Biomedical Technology. – 2015. – Vol. 60, No 1. – P. 1-30. – DOI: 10.1515/bmt-2015-5000.
192. Vascular endothelial growth factor (VEGF) - key factor in normal and pathological angiogenesis / C.S. Melincovici [et al.] // Romanian Journal of Morphology and Embryology. – 2018. – Vol. 59, No 2. – P. 455-467.
193. Zelko IN, Mariani TJ, Folz RJ: Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. Free Radic Biol Med. 2002, 33: 337-349. 10.1016/S0891-5849(02)00905-X.
194. Zuk P. A., Zhu M., Mizuno H. et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies // Tissue Eng. – 2001. – Vol. 7, № 2. – P. 211–228. – DOI: <https://doi.org/10.1089/107632701300062859>.

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2817049

**Остеокондуктивное и остеоиндуктивное
биокомпозиционное покрытие имплантов для
ускорения консолидации переломов животных**

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования "Саратовский
государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии
имени Н.И. Вавилова" (RU)*

Авторы: *Артемьев Дмитрий Алексеевич (RU), Козлов Сергей
Владимирович (RU), Клоков Владимир Сергеевич (RU), Бугаенко
Дмитрий Алексеевич (RU), Салытчук Анастасия Сергеевна (RU),
Клюкина Анна Дмитриевна (RU), Леошкина Диана Дмитриевна (RU)*

Заявка № 2022132566

Приоритет изобретения 12 декабря 2022 г.

Дата государственной регистрации
в Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 09 апреля 2024 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 12 декабря 2042 г.

*Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности*

ДОКУМЕНТ ПОДПИСАН ЭЛЕКТРОННОЙ ПОДПИСЬЮ
Сертификат 429b6a0fe3853164ba196f83b73b4aa7
Владелец **Зубов Юрий Сергеевич**
Действителен с 10.05.2023 по 02.08.2024

Ю.С. Зубов



«УТВЕРЖДАЮ»



Директор УНТЦ

«Ветеринарный госпиталь»,

Д.в.н., профессор ФГБОУ ВО

Вавиловский университет

А.С. Рыхлов

2025 г.

Акт

о проведении клинических испытаний и внедрения в лечебный процесс Учебного научно – технологического центра «Ветеринарный госпиталь» ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова», результатов научно – исследовательской работы по модифицированному наночастицами селена (nSe) остеопластическому покрытию для ускорения консолидации переломов мелких непродуктивных животных, аспиранта Клокова Владимира Сергеевича

Мы, нижеподписавшиеся члены комиссии в составе: Е.С. Краснова, В.Ю. Сацкевич составили настоящий акт по итогам клинических испытаний и внедрения в лечебный процесс модифицированного остеопластического покрытия наночастицами селена (nSe), предназначенного для проведения остеосинтеза у животных.

Покрытие продемонстрировало эффективность в лечении перелом костей, а также в предотвращении дегенеративно-дистрофических изменений.

Модифицированное покрытие обладает остеокондуктивными и остеоиндуктивными свойствами, высокой биосовместимостью, способностью к биоинтеграции, а также антибактериальным и антиоксидантным действиями.

Благодаря данным свойствам удалось снизить сроки консолидации на 20-22%.

На основании клинического и ортопедического осмотра подтвердили отсутствие воспалительных, септических, аллергических и токсических реакций.

Согласно рентгенологическому исследованию пациентов, прооперированных с учетом применения модифицированного покрытия, подтвердили отсутствие дегенеративно-дистрофических изменений в костной ткани с завершенной консолидацией.

Во всех случаях применения модифицированного покрытия достигнут положительный анатомо-функциональный результат лечения, включая отсутствие видимой хромоты у животных.

Ветеринарный врач, к.в.н.

Е.С. Краснова

Ветеринарный врач

В.Ю. Сацкевич



«УТВЕРЖДАЮ»
 Директор ветеринарной клиники
 «DoctorVet»
 д.в.н., профессор
 А.А. Волков
 М.П. «15» Января 2025 г.
 г. Саратов, ул. им. Г.И. Орджоникидзе, 119

АКТ

о проведении клинических испытаний и внедрения в лечебный процесс сети ветеринарных клиник «DoctorVet» результатов научно – исследовательской работы по модифицированному наночастицами селена (nSe) остеопластическому покрытию для ускорения консолидации переломов мелких непродуктивных животных, аспиранта Клокова Владимира Сергеевича

Мы, нижеподписавшиеся, члены комиссии в составе: С.Н. Бабухин, А.В. Полянина, Н.А. Нешко составили настоящий акт по итогам клинических испытаний и внедрения в лечебный процесс модифицированного остеопластического покрытия наночастицами селена (nSe), предназначенного для проведения остеосинтеза у животных.

В результате проведения лечебных мероприятий, по оказанию травматологической помощи кошкам и собакам, модифицированное наночастицами селена (nSe) покрытие оказало положительное влияние на заживление переломов костей, а также реабилитацию.

Благодаря клиническим, рентгенологическим и гематологическим исследованиям установили, что модифицированное покрытие эффективно препятствует развитию дегенеративно-дистрофических изменений костной системы, включая образование ложных суставов. Данный положительный результат определен активнордействующими веществами и их свойствами (остеокондуктивность, остеоиндуктивность, бактерицидность, регенерация, антиоксидантность).

За счет данных свойств, время, необходимое для полного сращения переломов, сокращается на 24%.

Лабораторные исследования крови подтвердили, что использование данного покрытия не вызывает воспалительных, септических, аллергических, гепатотоксических или нефротоксических реакций у животных.

Клинически установлен положительный анатомо-функциональный исход лечения во всех случаях применения покрытия.

Ветеринарный врач, к.в.н.

Ветеринарный врач

Ветеринарный врач

 С.Н. Бабухин
 А.В. Полянина
 Н.А. Нешко



«УТВЕРЖДАЮ»

Директор
ООО «Саратовский ветеринарный
Исследовательский центр»
Ю. В. Петрова
« 12 » 2024 г.
М.П. ООО «СВИЦ»
50 09 1216 001325
САРАТОВ

Акт

о проведении клинических испытаний и внедрения в лечебный процесс ООО «Саратовский ветеринарный исследовательский центр», результатов научно – исследовательской работы по модифицированному наночастицами селена (nSe) остеопластическому покрытию для ускорения консолидации переломов животных, аспиранта Клокова Владимира Сергеевича

Мы, нижеподписавшиеся, члены комиссии в составе: С. Д. Клокин, Ю. В. Петрова, О. М. Осипова составили настоящий акт по итогам клинических испытаний и внедрения в лечебный процесс остеопластического покрытия, усовершенствованного наночастицами селена (nSe), предназначенного для ускорения консолидации костной ткани у животных.

Данное покрытие использовалось при оказании травматологической и ортопедической помощи для мелких непродуктивных животных (кошки/собаки).

При использовании данного остеопластического покрытия рентгенологически, клинически, гематологически установили:

- отсутствие септических осложнений;
- снижение времени на консолидацию различных перелом трубчатых костей (18%);
- отсутствие аллергических реакций;
- отсутствие нарушений в гемодинамике и биофизических свойствах организмов;
- полная биоинтеграция.

Данная разработка удобна как для стерилизации, так и осуществления хирургической работы.

Нами рекомендуется использование данного модифицированного покрытия для проведения травматологической помощи мелким непродуктивным животным.

Главный ветеринарный врач, к.в.н., доцент

Ветеринарный врач

Ветеринарный врач

С.Д. Клокин

Ю. В. Петрова

О. М. Осипова

Министерство науки и высшего образования
Российской Федерации

Федеральное государственное
бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

«Саратовский государственный
университет генетики,
биотехнологии и инженерии
имени Н.И. Вавилова»

(ФГБОУ ВО Вавиловский университет)
410012, Саратовская область, г. Саратов,
пр-кт им. Петра Столыпина, зд. 4, стр.3,
факс: (8452) 23-47-81, тел.: 23-32-92
e-mail: rector@vavilovsar.ru
www.vavilovsar.ru

от 27.04.2025 № 75/2877
на № _____

«УТВЕРЖДАЮ»
Проректор по учебной
работе ФГБОУ ВО
Вавиловский университет
Макаров С.А.
« 23 » _____ 2025 г.



СПРАВКА О ВНЕДРЕНИИ

Результаты научных исследований аспиранта Клокова Владимира Сергеевича по теме «Модифицированное наночастицами селена (nSe) биокomпозиционное покрытие для имплантов» активно применяются в учебном процессе. Они используются при проведении лекций и лабораторно-практических занятий по дисциплинам «Общая и частная хирургия» и «Болезни собак и кошек» с обучающимися специальности 36.05.01 «Ветеринария» на кафедре «Болезни животных и ВСЭ» ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова»

Материалы исследования были рассмотрены и одобрены на заседании кафедры «Болезни животных и ВСЭ»: протокол №13 от 19.03.2025г.

Заведующий кафедрой
«Болезни животных и ВСЭ»,
кандидат биологических наук, доцент,

В.В. Строгов

Директор института
ветеринарной медицины и фармации
доктор биологических наук, доцент.

О.С. Ларионова