

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

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата ветеринарных наук

Саратов – 2026

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова»

**Научный руководитель**

**Артемьев Дмитрий Алексеевич**  
доктор ветеринарных наук, доцент

**Официальные  
оппоненты:**

**Луцай Владимир Иванович,**  
доктор ветеринарных наук, доцент, ФГБОУ ВО  
«РОСБИОТЕХ», заведующий кафедрой  
«Ветеринарная медицина», г. Москва  
**Винокурова Диана Петровна,**  
кандидат ветеринарных наук, доцент, ФГБОУ  
ВО «Кубанский государственный аграрный  
университет имени И.Т. Трубилина», доцент  
кафедры «Анатомия, ветеринарное акушерство и  
хирургия», г. Краснодар

**Ведущая организация:** ФГБОУ ВО «Донской государственный  
технический университет», г. Ростов-на-Дону

Защита состоится 3 апреля 2026 года в 11<sup>00</sup> часов на заседании диссертационного совета 35.2.035.02 на базе ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова» по адресу: 410005, г. Саратов, ул. Соколова, 335, УК № 3, диссертационный зал.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО Вавиловский университет и на сайте [www.vavilovsar.ru](http://www.vavilovsar.ru)

Отзывы направлять ученому секретарю диссертационного совета по адресу: 410012, г. Саратов, пр-кт им. Петра Столыпина зд.4, стр. 3, ФГБОУ ВО Вавиловский университет; E-mail: vetdust@mail.ru.

Автореферат разослан «    » \_\_\_\_\_ 2026 г.

Учёный секретарь  
диссертационного совета

Егунова Алла Владимировна

## 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**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 биокomпозитных 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, сохранением 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 клинко-экспериментальное обоснование эффективности восстановления костной ткани, с помощью модифицированного

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

**Задачи исследования:**

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 клинко-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. 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 исследования.** 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.

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 биокомпозиционного покрытия имплантов с наночастицами селена (nSe).
2. Оценка иммунологических процессов при использовании остеопластического биокомпозиционного покрытия имплантов с наночастицами селена (nSe).
3. Оценка морфологических процессов при использовании остеопластического биокомпозиционного покрытия имплантов с наночастицами селена (nSe).
4. Способ прагматизации репаративного остеогенеза биокомпозиционным покрытием имплантов с наночастицами селена (nSe).

**Степень достоверности и апробация 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.** 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.

**Объем и структура работы.** 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.

## 2. ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### 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.

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.

**Третий этап** посвящён определению специфической остеорепаративной активности модифицированного остеопластического биокомпозиционного 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.

<b>ПЕРВЫЙ ЭТАП</b>			
Модификация остеопластического покрытия имплантов наночастицами селена (nSe)			
<b>ВТОРОЙ ЭТАП</b>			
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 алергизирующего действия покрытия для имплантов (кролики, n=20)
<b>ТРЕТИЙ ЭТАП</b>			
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
<b>ЧЕТВЕРТЫЙ ЭТАП</b>			
Сравнительная характеристика оригинального и модифицированного остеопластического биоконпозиционного покрытия наночастицами селена (nSe) для имплантатов			
Биохимическое исследование		Иммуногематологическое исследование	

*Рисунок 1 – Схема структуры исследования*

Рентгенографическое исследование в динамике проводили с помощью рентгеновского аппарата Eso 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).

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<sub>2</sub>. Образцы центрифугировали при 3,5 тыс. об/мин в течение 10 минут на центрифуге 1248R (GYROZEN).

Исследование биологических характеристик костных тканей проводилось в рамках морфологического анализа с использованием светооптической микроскопии декальцинированных гистологических срезов и гистотопограмм. 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.

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 биокомпозиционного покрытия наночастицами селена (nSe) для имплантатов за счёт биохимического и иммунологического исследований.

## **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 мм.

Для сушки обработанных образцов применяли два альтернативных метода.

*Рисунок 2 - Модифицированное покрытие*

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. 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. Общетокические исследования модифицированного покрытия**

#### **Оценка острой токсичности**

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

На основании полученных данных по оценке пероральной токсичности модифицированного остеопластического биокомпозиционного покрытия установлен 3 класс опасности – вещества «Малотоксичные» с учётом ЛД<sub>50</sub>, рассчитанной по методу Финни (ГОСТ 12.1.007-76).

#### **Оценка раздражающего действия на кожу**

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 на слизистую оболочку**

Анализ результатов исследования (в соответствии с классификацией А. Majda, K. Chrusaieleška, 1973) свидетельствует о слабовыраженном раздражающем действии модифицированного nSe покрытия на слизистую оболочку.

#### **Оценка аллергизирующего действия**

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 биопокровтий.

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).

Ортопедическая помощь каждому пациенту осуществлялась в течение первых двух суток после получения травмы.

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

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.

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 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.

Интерпретируя клинический анализ крови, 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.

В первой группе гранулоциты (GRA), 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 значения 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. 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

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.

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.

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 значения 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.

Уровень TBil 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.

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.

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.

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.

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.

Содержание ТР 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.

Микроэлементы калий (K), кальций (Ca), фосфор (P) во всех группах за весь период времени проведения эксперимента не выходили за референсные значения.

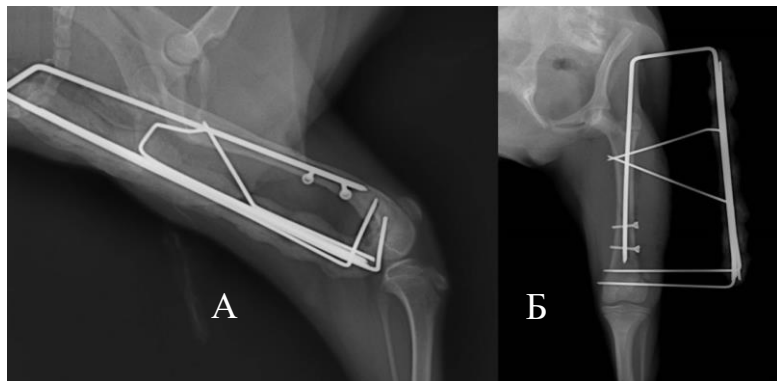
Подводя итог, следует сказать, что при использовании модифицированного наночастицами селена (nSe) покрытия имплантов для восстановления костной ткани животных отсутствует угнетение микроциркуляции в почках, выделительной функции, что характеризует отсутствие нефротоксичности композита. Наряду с этим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

#### **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 до, после хирургического вмешательства и на момент извлечения имплантов в латеро-медиальной и дорзо-вентральной ортогональных проекциях.

**Пример 1.** Консолидация произошла через 35 дней (нормальные временные рамки для сращения составляют 48-61 суток), что установлено клинически и рентгенологически (Рисунок 3).



В связи с изначальной точной анатомической репозиции и компрессии, сращение осуществилось согласно первичному заживлению без формирования костной мозоли.

Спустя 35 дней сняли металлоконструкцию.

Достигнут хороший анатомо - функциональный эффект лечения.

*Рисунок 3 – Рентгенограмма законсолидированного перелома бедренной кости спустя 35 дней (А - латеро-медиальная проекция, Б - дорзо-вентральная проекция)*

**Пример 2.** Консолидация диагностирована на 31 сутки (нормальные временные рамки для сращения составляют 48 - 61 суток), что установлено клинически и рентгенологически (Рисунок 4). В связи с изначальной точной анатомической репозиции и компрессии, сращение осуществилось согласно первичному заживлению без формирования костной мозоли.

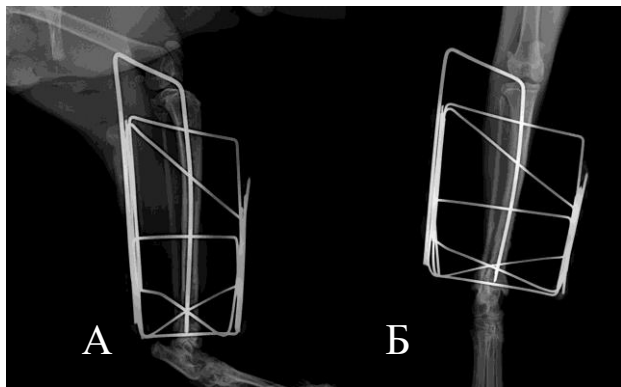


Рисунок 4 – Рентгенограмма законсолидированного перелома голени спустя 31 день (А - латеро-медиальная проекция, Б - дорзо-вентральная проекция)

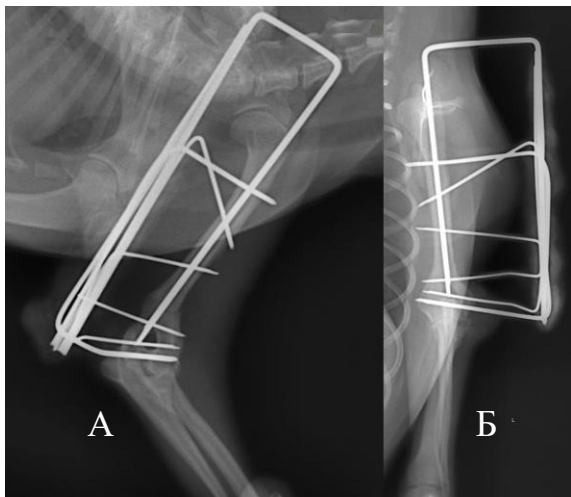


Рисунок 5 – Рентгенограмма законсолидированного поперечного перелома плечевой кости слева спустя 33 дня (А - латеро-медиальная проекция, Б - дорзо-вентральная проекция)

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.

Разница между опытными группами составила 11,37%. Однако, при сравнении первой опытной и контрольной группы зарегистрировано сокращение времени на 40,1%.

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

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.

На рисунке 6 достаточно визуализируются округлой формы остеоны [1], гаверсовы каналы с кровенаполненными кровеносными сосудами [2], также концентрически расположенный матрикс [3] со вставочными пластинками, в них видны остециты [4], связанные между собой отростками, также между остеонами располагаются остаточные пластинки старых разрушенных остеонов с общим слоем генеральных пластинок [5].

Установлено отсутствие какого-либо аллергизирующего и цитостатического эффекта, воспалительного процесса, препятствующего формированию здоровой костной ткани, при этом

Спустя 31 день сняли металлоконструкцию. Достигнут хороший анатомо-функциональный эффект лечения.

**Пример 3.** Консолидация диагностирована на 33 сутки (нормальные временные рамки для сращения составляют 48-61 суток), что установлено клинически и рентгенологически (Рисунок 5). В связи с изначальной точной анатомической репозиции и компрессии, сращение осуществилось согласно первичному заживлению без формирования костной мозоли.

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.

наличие небольшого межтканевого пространства указывает на более компактную структуру вновь образованных структур.

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.

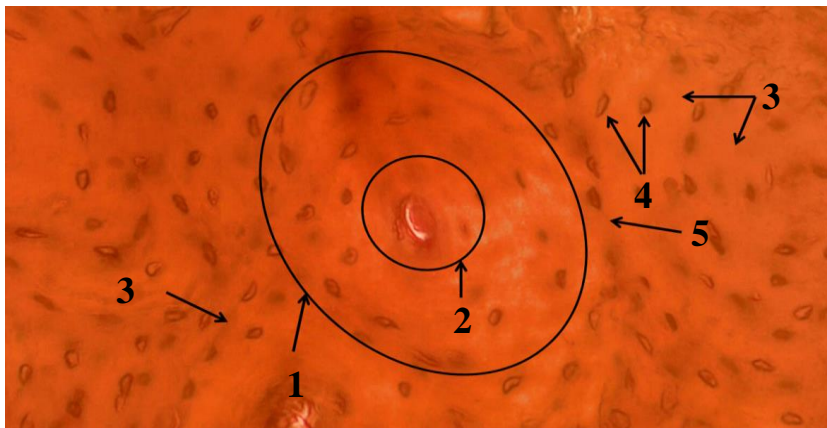


Рисунок 6 – Гистологическая картина консолидированной бедренной кости собаки. 1 - остеон; 2 – Гаверсов канал; 3 – матрикс; 4 – остеоцит; 5 – общий слой генеральных пластинок. Поперечный срез, ок.:10; об.:40

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

Материалом для измерения уровня цитокинов ФНО- $\alpha$  (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.

Данное исследование проводилось на трёхфазном анализаторе «TSM FC». Полученные результаты обработаны и сформированы в виде таблицы 1.

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- $\alpha$  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- $\alpha$  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.

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). 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.

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.

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

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.

*Таблица 1 – 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
<b>Опытная группа №1 (модифицированное покрытие с наночастицами селена, n=18)</b>	ФНО- $\alpha$ (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*
<b>Опытная группа №2 (оригинальное покрытие, n=18)</b>	ФНО- $\alpha$ (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*
<b>Контрольная группа (без применения покрытия, n=18)</b>	ФНО- $\alpha$ (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 ( $P \leq 0,05$ )*

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

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.

Получены следующие результаты концентраций глутатионпероксидазы (ГПО) и малонового диальдегида (МДА) (Таблица 2).

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 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 в первой опытной группе данный показатель составил 139,3 $\pm$ 5,3 нг/мл 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 активн действующего вещества как nSe. 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 2-й 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.



Таблица 2 – 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±4,2	6,6±0,09	74,1±3,3	6,9±0,07	72,3±2,9	6,3±0,12
3 сутки	*104,4±6,9	7,0±0,11	86,5±5,5	7,2±0,14	82,6±0,5	7,1±0,17
14 сутки	*139,3±5,3	*4,4±0,05	*110,2±3,7	5,3±0,06	97,2±0,6	5,2±0,09
28 сутки	*178,7±8,1	*2,6±0,02	*143±7,1	*4,3±0,04	123,1±0,2	4,7±0,07
42 сутки	*210,1±12,9	*2,5±0,02	*184,2±9,9	*2,5±0,04	156,7±0,9	3,9±0,03
56 сутки	*209,7±14,6	*2,6±0,03	*187,3±8,4	*2,5±0,04	162,3±1,6	2,7±0,03

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

Уровень МДА до операции во всех группах превышал референсные значения (2-4 нмоль/мл) и составлял (6,6±0,09; 6,9±0,07; 6,3±0,12 нмоль/мл соответственно для 1, 2 и 3 группы), что характеризуется высвобождением свободных радикалов и активных форм кислорода (АФК) после получения травмы. 3-и сутки установили максимальные значения данного показателя во всех группах (7,0±0,11; 7,2±0,14; 7,1±0,17 нмоль/мл соответственно для 1, 2 и 3 группы), что определено 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±0,02 нмоль/мл). В тоже время стабилизация МДА во второй опытной группе установлена к 42-м суткам (2,5±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 биокомпозиционного 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 биоконпозиционного 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 биоконпозиционного 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).

### 3. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате выполнения диссертационной работы мы пришли к следующим выводам:

1. Модифицированное (nSe) покрытие для имплантов содержит в качестве активнорействующих веществ: гидроксипатит, 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 алергизирующих и местно-раздражающих свойств исследуемого покрытия позволяет сделать вывод о наличии слабовыраженного раздражающего действия на слизистую оболочку глаза при полном отсутствии сенсибилизирующей активности. Представленные результаты соответствуют критериям безопасности для материалов медицинского назначения.

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



– не оказывает угнетающего действия на гемо- и эритропоэз. 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 биокомпозиционное 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- $\alpha$  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 РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ АВТОРОМ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### Статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ

1. 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. Леошкина, Д.А. Бугаенко // Научная жизнь. – 2022. – № 2. – С. 270-281.

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

3. 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.

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

5. 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.

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

7. **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.

### Патенты

8. Патент № 2817049 С1 Российская Федерация, МПК А61К 31/43, А61К 31/513, А61К 47/06. Остеокондуктивное и остеоиндуктивное биоконпозиционное покрытие имплантов для ускорения консолидации переломов животных: № 2022132566: заявл. 12.12.2022: опубл. 09.04.2024 / Д.А. Артемьев, С.В. Козлов, **В.С. Клоков** [и др.]; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова".

### Публикации в других изданиях

9. 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.

10. 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.

11. 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.

12. 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 – Режим доступа: <http://e-scio.ru>

scio.ru/wp-content/uploads/2022/04/Артемьев-Д.-А.-Козлов-С.-В.-Клоков-В.-С.-Бугаенко-Д.-А.pdf.

13. Артемьев, Д.А. Инновационное остеопластическое биокomпозиционное 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.

14. 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.

15. 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.

16. Артемьев, Д.А. Гематобioхимический статус собак при использовании биокomпозиционного 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.

17. 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 Международной научно-практической конференции / под редакцией В.В. Строгова. – Саратов: Вавиловский университет, 2024. – С. 8-11.

18. Артемьев, Д.А. Воздействие разработанного остеопластического покрытия для имплантов на цитокиновую систему (ФНО- $\alpha$ , 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.

19. 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 Международной научно-практической конференции / под редакцией В.В. Строгова. – Саратов: Вавиловский университет, 2024. – С. 16-20.

20. 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.

21. 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.

22. Артемьев Д.А. Результат воздействия, разработанного остеопластического биоконпозиционного покрытия для имплантов на цитокиновый профиль собак (ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО- $\alpha$ , VEGF) / Д.А. Артемьев, С.В. Козлов, **В.С. Клоков**, С.О. Шерепера // Технологические инновации и научные открытия: Сборник трудов по материалам XVIII Международного конкурса научно-исследовательских работ (21 июля 2024 г., г. Уфа). / – Уфа: Изд. НИЦ Вестник науки, 2024. – С. 29-36.

23. 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: Сборник трудов по материалам XVIII Международного конкурса научно-исследовательских работ (21 июля 2024 г., г. Уфа). / – Уфа: Изд. НИЦ Вестник науки, 2024. – С. 15-20.

24. 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: Сборник трудов по материалам XVIII Международного конкурса научно-исследовательских работ (21 июля 2024 г., г. Уфа). / – Уфа: Изд. НИЦ Вестник науки, 2024. – С. 37-43.

25. Артемьев Д.А. Клинический случай использования, разработанного остеопластического покрытия для имплантов при псевдоартрозе у собаки / Д.А. Артемьев, А.В. Егунова, С.В. Козлов, А.Ю. Алиев, **В.С. Клоков** // Прикаспийский вестник ветеринарии. – 2024. – № 3 (8). – С. 64-69.

26. **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.

27. **Клоков В.С.** Воздействие модифицированного наночастицами селена (nSe) остеопластического покрытия для имплантов на цитокиновую систему (ФНО- $\alpha$ , 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.

28. **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.