

На правах рукописи

**Артемьев Дмитрий Алексеевич**

**СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОПТИМИЗАЦИЯ  
РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗА ТРУБЧАТЫХ КОСТЕЙ МЕЛКИХ  
НЕПРОДУКТИВНЫХ ЖИВОТНЫХ**

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

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
доктора ветеринарных наук

Саратов 2025

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

**Научный руководитель**

**Козлов Сергей Васильевич,**  
доктор ветеринарных наук, доцент

**Официальные  
оппоненты:**

**Марьин Евгений Михайлович,**  
доктор ветеринарных наук, доцент, декан факультета ветеринарной медицины и биотехнологии ФГБОУ ВО Ульяновский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина

**Козлов Николай Андреевич,**  
доктор ветеринарных наук, доцент, профессор кафедры ветеринарной хирургии ФГБОУ ВО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина

**Концевая Светлана Юрьевна,**  
доктор ветеринарных наук, профессор, профессор кафедры ветеринарной интернатуры ФГБОУ ВО Донской государственный технический университет

**Ведущая организация:**

ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет И.Т. Трубилина»

Защита состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2025 года в \_\_<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 по адресу: 410012, г. Саратов, пр-кт им. Петра Столыпина зд.4, стр. 3, ученому секретарю диссертационного совета. E-mail: vetdust@mail.ru.

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2025 г.

Учёный секретарь  
диссертационного совета  
кандидат биологических наук, доцент

Егунова Алла Владимировна

## 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** Ветеринарная травматология и ортопедия как неотъемлемая часть общей патологии необходимы для формирования теоретических и практических основ лечения и профилактики болезней костного аппарата животных (Ю.А. Ватников, 2004; В.В. Анников, 2016; В.А. Епифанов, 2021).

Организация локомоторного аппарата является отражением онтогенеза в зависимости от условий питания, физических нагрузок, травматизма, генетических и инфекционных заболеваний в нео- и постнатальный периоды, и в этой связи системный алгоритм в диагностике, лечении, профилактике и реабилитации пациентов травматологического и ортопедического профиля позволит замедлить, остановить или полностью восстановить качество их жизни (Р. Денни Хемиш, 2007; М.Т. Gillespie, 2007; Чарльз Э. ДеКамп, 2022).

Кроме всего прочего, перспективы развития ветеринарной травматологии и ортопедии, в настоящее время, связаны с созданием силового оборудования, травматологического инструментария, расходных материалов для проведения и ускорения оперативных вмешательств, способствующих снижению ятрогенного воздействия, созданию трансплантационных материалов, замещающих костную ткань или покрытий для имплантатов, оказывающих стимуляционную активность на костную структуру, а также для протезирования утраченных или необратимо повреждённых частей тела организма, реабилитацией.

Ретроспективный анализ литературных источников показывает, что среди патологий травматологического и ортопедического профиля встречаются: переломы костей, формирование ложного сустава, артроз, остеохондроз, остеопороз, остеолиты костей, деформация костной структуры, острые и хронические инфекции кости, контрактура суставов, приводящие к дегенеративно-дистрофическим нарушениям и, как следствие, инвалидизации (Ф.В. Шакирова, 2011; А.В. Смирнов, 2014; Д.С. Ульянов, 2016).

На сегодняшний день отсутствуют данные, способные объективно оценить функционирование костных трансплантатов и покрытий на импланты для остеосинтеза, так как известны лишь одиночные исследования на экспериментальных животных, в том числе собаках и кошках (В.В. Бочкарев, 2015; Н.А. Кононович, 2018; А.А. Денисова 2021). Биоконструкты на основе гидроксиапатита и фосфата кальция являются наиболее востребованными в качестве внедряемых материалов, а предлагаемые материалы адаптированы для человека (О.А. Малахов, 2002; Г.Н. Берченко, 2010; Ш.М. Ахмедов, 2015; В.А. Конев, 2021). В связи с этим они не способствуют, в большинстве случаев, разрешению аналогичных задач в ветеринарной травматологии и ортопедии.

Одновременно с этим, необходимы исследования по оптимизации репаративного остеогенеза посредством модификации биоконструктов и покрытий для имплантов, повышающие остеокондуктивные, остеоиндуктивные, антибактериальные и регенераторные свойства, создание травматологического инструментария для препарирования и мобилизации тканей, фиксации и фиксации костных отломков, а также способов нейромышечной реабилитации (L.C. Burstiner, 2010; В.Ф. Лысов, 2012; Г.А. Оноприенко, 2017; В.А. Епифанов, 2021).

Диссертационная работа выполнена в контексте научно-исследовательской работы согласно плану НИР ФГБОУ ВО Вавиловский университет, а также программе развития университета на 2021–2030 годы в рамках реализации программы стратегического академического лидерства «Приоритет 2030».

**Степень разработанности темы.** Фундаментальные исследования по изучению этиологии и патогенеза классического заживления перелома, а также методов диагностики и остеосинтеза у животных были осуществлены рядом зарубежных и отечественных ученых.

Универсальная классификация переломов АО/ASIF и AOVET сформировали базовые принципы лечения переломов, основанных на точной репозиции отломков, максимальном снижении ятрогенного воздействия, сохранении кровоснабжения отломков и окружающих тканей, формировании относительной и абсолютной стабильности и последующей реабилитации (P. Matter, 1975; G.A. Noser, 1977; D. Lindsey, 1980; J. Mast, 1989; S. Weller, 1991;

M. Maller, 1991; R.M. McLaughlin, 1992; R.H. Palmer, 1993; S.A. Martinez, 1997; M.G. Ness, 2009; T. Nicetto, 2013).

Помимо базовых принципов лечения переломов, предложенными АО/ASIF и AOVET, учеными и практикующими врачами активно обсуждаются и внедряются костные трансплантаты, стараясь оптимизировать репаративный остеогенез трубчатых костей (J.D. Bacher, 1980; T.N. Vebchuk, 2000; T.J. Blokhuis, 2011; G.R. Ragetly, 2011; А.Э. Изосимова, 2016; Н.А. Кононович, 2019; В.А. Конев, 2021).

Несмотря на многолетнюю практику, на сегодняшний день не удалось создать эффективные ветеринарные биокомпозиционные остеопластические материалы и покрытия для имплантов, обладающие остеоиндуктивными, остеокондуктивными, антибактериальными и регенераторными свойствами (K. Hing, 2005; S.C. Hodge, 2011; P. Hernigou, 2012; Д.А. Коробейникова, 2019; В.И. Апанасевич, 2020). Анализ имеющейся информации по ветеринарной реабилитологии характеризует разработки систем реабилитации животных с широким диапазоном мануального и инструментального приложения (С. Bassett, 1972; Д.С. Ульянов, 2016; В. Bockstahler, 2017). На сегодняшний момент, способы нейромышечной реабилитации для профилактирования, поддержки или восстановления первичных и вторичных заболеваний опорно-двигательного аппарата у мелких непродуктивных животных остаются не разрешенными (В.В. Александров, 2013; Лоренц Майкл Д., 2015; П.А. Берест, 2019).

**Цель исследования.** Оптимизация организации репаративного остеогенеза при диафизарных переломах, замедленной консолидации, формировании ложных суставов и наличия несращения у мелких непродуктивных животных.

**Задачи исследования:**

1. Разработать биоматериал для ускорения консолидации диафизарных переломов, замедленной консолидации, формировании ложных суставов и наличия несращения у мелких непродуктивных животных.
2. Произвести доклиническую и клиническую оценку разработанного биоматериала.
3. Дать оценку гематологического, рентгенологического и гистологического исследования индуцированного остеосинтеза разработанным биоматериалом у целевых животных.
4. Дать оценку репаративным процессам на основе анализа отдельных цитокинов крови целевых животных при использовании разработанного биоматериала.
5. Разработать остеопластическое биокомпозиционное покрытие имплантов для ускорения консолидации диафизарных переломов, замедленной консолидации, ложных суставов и несращения у мелких непродуктивных животных.
6. Произвести доклиническую и клиническую оценку разработанного остеопластического биокомпозиционного покрытия.
7. Дать оценку гематологического, рентгенологического и гистологического исследования индуцированного остеосинтеза имплантами с разработанным биокомпозиционным покрытием у целевых животных.
8. Дать оценку репаративным процессам на основе анализа отдельных цитокинов крови целевых животных при использовании имплантов с разработанным биокомпозиционным покрытием.
9. Разработать травматолого-ортопедические инструменты, способные минимизировать хирургическое вмешательство и затрачиваемое время на проведение процедур и манипуляций.
10. Разработать способ нейромышечной реабилитации мелких непродуктивных животных.

**Объект исследования.** Объектом экспериментальных исследований являлись клинически здоровые кролики, белые инбредные мыши, собаки. Объектом клинических исследований являлись кошки и собаки.

**Предмет исследования.** Предметом исследования являлся гомеостаз организма животных, физико-химические и биофармацевтические свойства разработанных материалов, их терапевтическая эффективность при травматолого-ортопедических патологиях у мелких непродуктивных животных, кровь лабораторных и экспериментальных животных, клинические,

биохимические, рентгенологические, гистологические, биомеханические, иммунологические исследования.

#### **Научная новизна.**

1. Впервые предложен оригинальный остеопластический биокомпозиционный материал для ускорения консолидации переломов животных (Патент № 2805654).

2. Впервые предложено оригинальное остеокондуктивное и остеоиндуктивное биокомпозиционное покрытие имплантов для ускорения консолидации переломов животных (Патент №2817049).

3. Доказано, отсутствие токсического действия разработанного биоматериала и покрытия для имплантов на лабораторных и целевых животных.

4. Доказаны антимикробные свойства разработанного биоматериала и покрытия для имплантов.

5. Впервые разработан способ оптимизации репаративного остеогенеза трубчатых костей животных с применением биокомпозиционного материала (Патент № 2816808).

6. Впервые разработан способ прагматизации репаративного остеогенеза трубчатых костей животных с применением остеокондуктивного и остеоиндуктивного биокомпозиционного покрытия для имплантов (Патент № 2816809).

7. Разработан травматолого-ортопедический инструментарий для оптимизации остеосинтеза: ветеринарный костодержатель (Патент № 2800019), хирургический распатор для животных (Патент № 2784814) и ортопедический дистрактор для животных (Патент № 2779002).

8. Разработан способ нейромышечной реабилитации мелких непродуктивных животных (Патент № 2820160).

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Благодаря экспериментальным исследованиям, проведенных с применением широкого диапазона современных методов, определены ортопедические признаки и параметры структурной организации костной ткани, считающиеся фундаментальными при клинико-морфологической диагностике их состояния, а также оказания травматологической и ортопедической помощи.

Определены системные параметры прагматизации репаративного остеогенеза посредством применения биокомпозиционного материала и покрытия для имплантов, обладающие остеокондуктивными, остеоиндуктивными, антибактериальными, регенераторными, а также биоинтеграционными свойствами. Расширена информация по морфологическим, гематологическим, биохимическим, рентгенологическим, гистологическим параметрам и цитокиновому профилю физиологического и оптимизированного процесса репаративного остеогенеза.

В хирургическую практику ветеринарных врачей предложен:

- биокомпозиционный остеопластический материал и биокомпозиционное остеопластическое покрытие для имплантов, оказывающие ускорение консолидации при диафизарных переломах, замедленном сращении, формировании ложных суставов;

- травматологический инструментарий (распатор, костодержатель, дистрактор), способствующий снижению ятрогенного воздействия и минимизированию времени на проведение хирургических мероприятий;

- способ нейромышечной реабилитации мелких непродуктивных животных, способствующий стабилизации и увеличению мышечного каркаса благодаря электростимуляции низкочастотными импульсными переменными токами.

**Методология и методы исследования.** Методологической базой осуществленных научных исследований явились работы Ю.А. Ватникова (2004), В.В. Анникова (2006), И.Б. Самошкина (2008), Н.А. Слесаренко (2008), Ф.В. Шакировой (2011), Н.В. Сахно (2012), А.В. Красникова (2017), А.А. Стекольниковой (2019), Е.М. Марьяна (2020).

В процессе научно-исследовательской деятельности освоили и использовали методы научного поиска, анализа, сравнения, обобщения. С помощью современных диагностических методов определяли имеющиеся патологические проявления заболеваний, а также

осуществляли оценку деятельности разработанных материалов, инструментов и реабилитационных мероприятий. Благодаря данным диагностики определили параметры структурной и функциональной организации репаративного остеогенеза трубчатых костей мелких непродуктивных животных. Для выполнения поставленных задач применен комплекс высокотехнологичного оборудования научного подразделения ФГБОУ ВО Вавиловский университет.

**Положения, выносимые на защиту:**

1. Клинико-морфологическая оценка остеорепаративных процессов при применении остеопластического биокомпозиционного материала и покрытия для имплантов у мелких непродуктивных животных.

2. Динамический профиль цитокинов сыворотки крови при применении остеопластического биокомпозиционного материала и покрытия для имплантов у мелких непродуктивных животных.

3. Способ оптимизация репаративного остеогенеза биокомпозиционным остеопластическим материалом при проведении остеосинтеза.

4. Способ прагматизации репаративного остеогенеза биокомпозиционным остеопластическим покрытием для имплантов при проведении комбинированного или интрамедуллярного остеосинтеза.

5. Травматологический инструментарий, снижающий ятрогенное воздействие хирурга, направленный на атравматичность анатомического доступа, distraction, компрессию, репозицию и временную фиксацию отломков.

6. Способ нейромышечной реабилитации мелких непродуктивных животных.

**Степень достоверности и апробация результатов.** Достоверность проведенных исследований определена существенным объемом обработанного материала с применением высокоинформативных методов исследования в лабораторных и производственных условиях на сертифицированном оборудовании с последующей статистической обработкой.

Значимые результаты и материалы диссертационной работы апробированы на: 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» (Уфа, 2024); Международной научно-практической конференции (Дагестан, 2024).

Материалы диссертационной работы используются в учебном процессе на профильных кафедрах ФГБОУ ВО Российского государственного аграрного университета - МСХА имени К. А. Тимирязева, ФГБОУ ВО Волгоградского государственного аграрного университета, ФГБОУ ВО Мичуринского государственного аграрного университета, ФГБОУ ВО Казанской государственной академии ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана, ФГБОУ ВО Саратовского государственного университета генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова.

Биокомпозиционный остеопластический материал и покрытие для имплантов адаптированы и внедрены в лечебный процесс в УНТЦ «Ветеринарный госпиталь» (г. Саратов), ветеринарной клинике «DoctorVet» (г. Саратов), ООО «Энгельсская ветеринарная клиника» (г. Энгельс), ветеринарной клинике «Белый лис» (г. Санкт-Петербург), ветеринарной клинике «Байга» (г. Саратов), Саратовском ветеринарном исследовательском центре (г. Саратов), ветеринарной клинике «МАРГОША ВЕТ» (г. Саратов), ветеринарной клинике «VitaVet» (г. Саратов).

**Личный вклад соискателя.** В работе представлены данные по исследованиям, проведенным в период с 2020 по 2024 годы. В ходе работы разработан остеопластический

биокомпозиционный материал, а также остеокондуктивное и остеоиндуктивное биокомпозиционное покрытие имплантов для ускорения консолидации переломов животных. Проведена их сравнительная терапевтическая эффективность. Разработан травматолого-ортопедический инструментарий для оптимизации остеосинтеза, а также способ нейромышечной реабилитации мелких непродуктивных животных. Основная часть клинико-экспериментальных работ, а также систематизация и анализ полученных результатов, выполнены автором лично.

**Публикации.** По результатам диссертационной работы опубликована 51 научная работа, из них 14 – в научных журналах, входящих в Перечень ВАК Министерства образования и науки РФ. Получены 8 патентов РФ на изобретение. Общий объем публикаций составляет 29,18 п.л., из них 24,8 п.л. принадлежат лично соискателю.

**Объем и структура работы.** Диссертационная работа представлена на 330 страницах стандартного компьютерного текста, включающая в себя введение, основную часть, заключение. Данная работа содержит 48 таблиц, 97 рисунков и 29 приложений. Список использованной литературы включает в себя 464 источников, из которых 183 отечественных и 281 иностранных авторов.

## 2. ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### 2.1. Методология, материал и методы исследования

Диссертационная работа выполнена в период с 2020 по 2024 гг. в ФГБОУ ВО Вавиловский университет.

Экспериментальная часть проводилась в ФГБОУ ВО Вавиловский университет, клиническая часть проводилась в ветеринарной клинике «DoctorVet» города Саратов.

Предметом исследования являлся гомеостаз организма животных, физико-химические и биофармацевтические свойства разработанных материалов, их терапевтическая эффективность при травматолого-ортопедических патологиях у мелких непродуктивных животных, кровь лабораторных и экспериментальных животных, клинические, биохимические, рентгенологические, гистологические, биомеханические, иммунологические исследования.

Материалом для экспериментальной части исследований являлись пробы крови животных ( $n=560$ ), сыворотка крови животных ( $n=560$ ), фрагменты костных тканей зоны консолидации животных для гистологического исследования ( $n=30$ ), рентгенограммы животных ( $n=840$ ). Общий экспериментальный материал составил 245 голов животных (кролики, собаки, мыши).

Объектом для экспериментальных исследований стали клинически здоровые кролики породы «Шиншилла» в количестве 55 голов в возрасте 9 месяцев и живой массой  $2,97 \pm 0,3$  кг, белые инбредные мыши в количестве 160 голов в возрасте 2 месяцев и живой массой  $23,0 \pm 0,3$  г, беспородные собаки в количестве 30 голов в возрасте 1 года и живой массой  $10,0 \pm 3,5$  кг.

Материалом для клинической части исследований являлись рентгенограммы 434 животных ( $n=1736$ ). Общий клинический материал составил 434 пациента, из них: 186 кобелей, 125 сук; 70 котов и 53 кошки распределенных по возрастному фактору, уровню и виду перелома, а также методу остеосинтеза.

Научно-исследовательская деятельность определена семью этапами (Рисунок 1).

**Первый этап** исследовательской деятельности посвящен разработке биокомпозиционного остеопластического материала / покрытия для имплантов, обладающие остеокондуктивностью, остеоиндуктивностью, регенераторными и антибактериальными свойствами для использования в лечении при ортопедических заболеваниях животных:

1. 1,5% биокомпозиционный остеопластический материал. В качестве активнорействующего вещества данный биокомполит содержит гидроксиапатит – 1,0 г, метилурацил – 1,0 г, амоксициллин - 0,05 г, альгината натрия – 0,75 г и растворитель вода до 50,0 мл.

2. 2,0% биокомпозиционный остеопластический материал. В качестве активнорействующего вещества данный биокомполит содержит гидроксиапатит – 1,0 г, метилурацил – 1,0 г, амоксициллин - 0,05 г, альгината натрия – 1,0 г и растворитель вода до 50,0 мл.

3. 3,5% остеопластическое биокomпозиционное покрытие для имплантов. В качестве активноедействующего вещества данное покрытие содержит гидроксиапатит – 1,0 г, метилурацил – 1,0 г, амоксициллин - 0,05 г, полилактид – 3,5 г.

4. 5,0% остеопластическое биокomпозиционное покрытие для имплантов. В качестве активноедействующего вещества данное покрытие содержит гидроксиапатит – 1,0 г, метилурацил – 1,0 г, амоксициллин - 0,05 г, полилактид – 5,0 г.



Рисунок 1 – Схема структуры исследования

**Второй этап** связан с изучением общетоксических и антибактериальных свойств разработанного материала и покрытия для имплантов на лабораторных животных с определением безопасности их применения в ветеринарной практике.

Определение общетоксического действия осуществлялась по «Правилам лабораторной практики в РФ» (Приказ № 708н от 23.08.2010 г.) и «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая (2012). Опыты с лабораторными и целевыми животными осуществлялись в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (от 12.08.1977 г. №755), «Международными принципами Хельсинской декларации о гуманном отношении к животным», ГОСТ ISO 10993-1-2011, а также рекомендациями Комитета по Этике ФГБОУ ВО СГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России. Данные исследования проводились согласно утвержденному протоколу и в соответствии со Стандартными операционными процедурами исследователя. 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) и «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая (2012) и OECD GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS "Acute Dermal Toxicity".

Зоогигиенические условия всех экспериментальных животных были идентичными, регламентированные рекомендациями по содержанию и кормлению лабораторных животных (ГОСТ 33215-2014). Опыты проведены в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (от 12.08.1977 г. №755), «Международными принципами Хельсинской декларации о гуманном отношении к животным», ГОСТ ISO 10993-1-2011.

Определение чувствительности резистентной микрофлоры к амоксициллину, активнодействующего вещества биокомпозита и покрытия для имплантов, проведено методом двойных серийных разведений согласно методическим указаниям (МУК 4.2.1890—04), (Vet Union, №AN474-M).

**Третий этап** связан с определением клинико-рентгенологической, клинико-биохимической, гистологической, а также цитокиновой картины целевых животных при использовании разработанного биокомпозиционного остеопластического материала и покрытия для имплантов.

Рентгенографию проводили с помощью рентгеновского аппарата Eco Ray Orange 1040HF (Панель-детектор PZ-medical 1417) (Южная Корея) с DR-панелью. Для контроля динамики минерализации в области перелома на аппаратно-компьютерном комплексе «ZOOMED» (ПО: VetConsole; Версия ПО: V5.0.0.6; Название фирмы: PZMedical; Авторские права: Copyright© 2021 PZMedical Technology Company Limited) обрабатывали оцифрованные изображения рентгеновских снимков, исполненных в двух стандартных (латеро-медиально, дорзо-вентрально) ортогональных проекциях: до, после операции, а также на 3-и, 7-е, 15-е, 30-е, 45-е, 60-е сутки после оперативного вмешательства.

Настройки аппарата: проникающая способность рентгеновских лучей (KV) 40-80 KV, сила рентгеновских лучей (mA) 40-200 mA, выдержка (mSec) 40-200 mSec в зависимости от целей диагностики, размеров и видов животных.

Исследования морфологического состава клинического анализа крови кроликов и собак осуществляли на гематологическом анализаторе Mindray BC-2800 Vet (China), с применением гематологических реагентов Diatron (Диатрон). Аспирацию крови у животных производили по всем правилам септики и асептики из ушной вены или из вен предплечья утром натощак до проведения экспериментов, на 3-и, 15-е и 30-е сутки после оперативного вмешательства в объеме 2,0-3,0 мл. Для исследования цитокинового профиля аспирацию крови у собак осуществлялся до проведения оперативных вмешательств, на 3-и, 7-е, 14-е, 30-е, 45-е и 60-е сутки после них. Использовали вакуумные пробирки с ЭДТА K2 Lind-Vac 1 мл 13×75 мм для гематологии (производитель: OÜ InterVacTechnology, Эстония). Биохимическое исследование сыворотки крови экспериментальных животных производили на биохимическом анализаторе полуавтоматического типа BioChemSA (USA) с применением реагентов линейки Диакон-ДС (Россия). Аспирацию крови кроликов и собак производили одномоментно как для клинического так и биохимического исследования. Использовали пробирки с активатором образования сгустка – сухой SiO<sub>2</sub> (диоксид кремния) (Производитель: Improvacuter, Китай). Центрифугирование полученной крови при 3,5 тыс. оборотов в течении 10 минут с помощью напольной высокоскоростной центрифуги 1248R (GYROZEN, Корея).

Оценку биореологических свойств костной структуры осуществляли благодаря фундаментальному морфологическому исследованию на светооптическом уровне декальцинированных срезов, гистотопограмм. Животным (собакам) однократно производился перпендикулярная латеро-медиальная аспирация костного регенерата со средней трети диафиза лучевой кости с помощью иглы для трепанобиопсии костной ткани BEST LISAS (БЕСТ ЛИСАС) BSL1305, 13G. Гистологическое исследование костной ткани, полученной благодаря

толстоигольной пункционной биопсии, проводили по стандартной методике (А.В. Пахт, 2008). Исследование готовых гистопрепаратов осуществлялась с помощью светооптического микроскопа (Микромед 3, ЛЮМ LED, Китай) под увеличением x100, x200, x400.

Определение цитокинового профиля проводили с помощью метода твердофазного иммуноферментного анализа при применении тест-систем фирмы «Белки антитела РФ; Производитель: Cloud-Clone Corp. Сертификация: ISO13485:2016 / ISO9001:2015 на ИФА анализаторе «Thermo Scientific Multiskan FC, USA».

**Четвертый этап** описывает клиническую оценку сравнительной эффективности разработанного 1,5% биокомпозита и 3,5% покрытия для имплантов при оказании травматолого-ортопедической помощи у 434 собак и кошек, в период с 2020 по 2024 год, на базе ветеринарной клиники DoctorVet (г. Саратов).

**Пятый этап** связан с разработкой и созданием травматологического инструментария, в частности:

- костного ортопедического дистрактора для животных, предназначенного для точечной репозиции трубчатых костей при патологическом смещении по длине и ширине проксимального и дистального фрагментов, обеспечивающего возможность измеримой, постепенной и контролируемой дистракции и компрессии при проведении остеосинтеза.

- ветеринарного костодержателя, обеспечивающего стабильную, временную фиксацию костных фрагментов с возможностью установки имплантов (винты и спицы для остеосинтеза), без ослабления временной фиксации.

- хирургического распатора для животных, при помощи которого возможно изолирование надкостницы, хрящевых и фиброзных тканей от костной структуры и зубов, отделение и отведение сухожильно-связочного аппарата, а также мягкотканых структур, нервов, сосудов, слизистой, применяя распатор в качестве манипулятора.

**Шестой этап** определен разработкой способа нейромышечной реабилитации мелких непродуктивных животных, заключающийся в использовании низкочастотного импульсного переменного тока с диапазоном частот электрических импульсов – 1-1000 Гц в качестве консервативной терапии в постоперационном периоде у мелких непродуктивных животных.

Количественное исследования состояния мышечного каркаса осуществляли миотонометрией с применением динамического миотонометра для неинвазивной пальпации мышечной ткани. Тонус мышечной ткани регистрировался по шкале динамического инструмента в абсолютных величинах – кг/см<sup>2</sup>.

Статистическую обработку полученных данных осуществляли согласно стандартным операциям, с применением программного обеспечения Microsoft Excel / AtteStat 2023 (Microsoft Corporation, USA) и StatPlus 2009 Portable 5.8.3.0 (AnalystSoft, USA) для определения достоверности отличий между выборками опытных и контрольных групп благодаря использованию t-критерия Стьюдента. По определению среднеарифметического и стандартного отклонения известных подборок находили стандартную ошибку среднего с уровнем его достоверности диапазона в зависимости от коэффициента Стьюдента  $t(n,p)$ , уровня значимости 95% ( $p=0,05$ ) и числа измерений  $n$ .

## 2.2. Результаты исследований и их анализ

### 2.2.1. Технология получения остеопластического биокомпозиционного материала



Биокомпозиционный остеопластический материал для ускорения консолидации переломов животных (Патент № 2805654) (Рисунок 2). В дистиллированной воде при температуре окружающей среды в 22°C растворяют при непрерывном размешивании, например, с помощью магнитной мешалки, альгинат натрия до образования однородного раствора молочного цвета.

Рисунок 2 – 1,5% биокомпозиционный остеопластический материал

После полного растворения альгината натрия (0,75 г) добавляют последовательно при непрерывном перемешивании метилурацил (1,0 г), гидроксиапатит (1,0 г) и амоксициллин (0,05 г) по 50 мг каждые 15 минут.

Далее останавливают перемешивание и полученную суспензию заливают в форму, которую помещают в 0,2М раствор хлорида кальция и оставляют при температуре 22 – 25°C на 48 часов. Произведённый 1,5% композит имеет белый цвет, упругую консистенцию. Для формирования 2,0% биоматериала при известной методике использовали 1,0 г гидроксиапатита, 1,0 г метилурацила, 0,05 г амоксициллина и 1,0 г альгината натрия.

### **2.2.2. Технология получения остеопластического биокомпозиционного покрытия для имплантов**

Остеокондуктивное и остеоиндуктивное биокомпозиционное покрытие имплантов для ускорения консолидации переломов животных (патент № 2817049). В 100 мл хлороформа, при температуре окружающей среды в 22°C при непрерывном перемешивании, на магнитной мешалке растворяют 3,5 гр. полилактида. Образуется густая суспензия прозрачного цвета. После полного растворения полилактида добавляют последовательно при непрерывном перемешивании 1,0 г метилурацила, 1,0 г гидроксиапатита и 0,05 г амоксициллин по 200 мг каждого компонента каждые 20 минут 5 раз. Произведённое 3,5% покрытие имеет молочный цвет (Рисунок 3).



*Рисунок 3 – 3,5% биокомпозиционное остеопластическое покрытие*

Для формирования 5,0% покрытия при известной методике использовали 5,0 г полилактида, 1,0 г метилурацила, 1,0 г гидроксиапатита и 0,05 г амоксициллина.

После приготовления покрытий разной концентрации, стерильные хирургические импланты (спицы, штифты) опускаем в полученный раствор 5 раз, по 10 секунд каждый, с интервалом в 2 минуты. Образуется тонкая пленка 1-1,5 мм, после, устанавливаем импланты с нанесенным слоем в штатив и оставляем при температуре окружающей среды в 22°C на 24-48 часов или проводим однократно лиофильную сушку при температуре 3-5°C при давлении  $5 \cdot 10^{-1}$  Па в течение 30 минут. Перед проведением остеосинтеза данные импланты стерилизуются в сухожаровом шкафу.

### **2.3. Общетоксические и антибактериальные свойства остеопластического биокомпозиционного материала и покрытия для имплантатов**

При изучении общетоксического действия разработанных образцов установлено, что среднесмертельная доза (LD 50) для 1,5% биокомпозиционного материала составляет  $3755,56 \pm 159,44$  мг/кг; для 2,0% биокомпозиционного материала составляет  $3551,80 \pm 129,46$  мг/кг; для 3,5% биокомпозиционного остеопластического покрытия составляет  $3862,56 \pm 404,27$  мг/кг; для 5,0% биокомпозиционного остеопластического покрытия составляет  $3657,07 \pm 159,43$  мг/кг, что относит их к 3-му классу опасности, согласно ГОСТ 12.1.007-76. Согласно стандарту ГОСТ ISO 10993 - 10—2011 данные материалы обладают несущественной степенью ответной реакцией кожных покровов со слабой степенью раздражающего действия на слизистую оболочку, при этом не обладающим алергизирующим действием.

Согласно МУК 4.2.1890—04 (Vet Union, №AN474-M) разработанные материалы обладают минимальной подавляющей концентрацией для: *Staphylococcus arlettae*, *Corynebacterium ammoniagenes*, *Streptococcus ovis*, *Staphylococcus chromogenes*, *Corynebacterium stationis*, *Staphylococcus sciuri*, *Corynebacterium callunae*, *Staphylococcus lentus*, *Staphylococcus aureus*, *Aerococcus viridians*, *Corynebacterium glutamicum* ( $>0,25$  мкг/мл). Высокая чувствительность к: *Staphylococcus gallinarum* (0,5 мкг/мл); *E.coli* (1 мкг/мл); *Proteus mirabilis* (2 мкг/мл); *Bacillus pumilus* (4 мкг/мл), средняя чувствительность для *Enterococcus hirae* (8 мкг/мл) и *Proteus vulgaris* (16 мкг/мл). Наименьшая чувствительность к для *Wohlfahrtiimonas chitiniclastica*, *Acinetobacter indicus*, *Pseudomonas proteolytica*, *Klebsiella pneumoniae* ( $>64$  мкг/мл).

## **2.4. Специфическая остеорепаративная активность разработанного биокомпозиционного материала и покрытия для имплантов**

### **2.4.1. Специфическая остеорепаративная активность разработанного остеопластического биокомпозиционного материала на лабораторных животных (кролики)**

#### **2.4.1.1. Динамика клинико-биохимических изменений крови при применении остеопластического биокомпозиционного материала у лабораторных животных (кролики)**

Объектом исследования являлись кролики породы Шиншилла (Пол: самцы; возраст: 9 месяцев; масса: 2,7-3,5 кг.). Предметом исследования являлась кровь лабораторных животных.

Кролики были объединены по принципу пар-аналогов в три группы по пять голов в каждой (n=5), где одна контрольная и две опытные группы.

Всем группам, с целью изучения процессов остеорепаративной активности трубчатых костей, при применении разработанного остеопластического биокомпозиционного материала, моделировали прямой перелом бедренной кости слева в области средней трети диафиза (32-А3, по классификации переломов АО VET) с последующим внеочаговым остеосинтезом.

Во второй (опытной) группе после генерации экспериментального перелома в процессе внеочагового остеосинтеза применяли разработанный 1,5% остеопластический биокомпозиционный материал, имеющую мягкую форму и состоящий из: 1 г гидроксиапатита, 1 г метилурацила, 0,05 г амоксициллина, 0,75 г альгината натрия и 50 мл дистиллированной воды, при этом объем вводимого материала составлял  $\approx 1,0 \text{ см}^3$ .

В третьей (опытной) группе, с учетом аналогичных условий эксперимента, применяли разработанный 2,0% остеопластический биокомпозиционный материал, имеющую мягкую форму и состоящий из: 1 г гидроксиапатита, 1 г метилурацила, 0,05 г амоксициллина, 1 г альгината натрия и 50 мл дистиллированной воды, при этом объем вводимого материала составлял  $\approx 1,0 \text{ см}^3$ .

Аспирацию крови у животных производили по всем правилам асептики и антисептики из ушной вены или из вен предплечья утром натошак до проведения экспериментов, на 3-и, 15-е и 30-е сутки после оперативного вмешательства в объеме 2,0-3,0 мл.

В первые трое суток после оперативного вмешательства определяется повышение лейкоцитов (WBC). В первой группе данный показатель имел значение  $17,4 \pm 1,2 \times 10^9/\text{L}$ , во второй  $17,6 \pm 1,3 \times 10^9/\text{L}$ , в третьей  $18,4 \pm 1,6 \times 10^9/\text{L}$ . На пятнадцатые сутки данный показатель в первой группе составил  $16,9 \pm 1,1 \times 10^9/\text{L}$ , во второй  $15,9 \pm 1,1 \times 10^9/\text{L}$ , в третьей  $17,4 \pm 1,6 \times 10^9/\text{L}$ , однако, на 30 сутки после операции в первой группе  $15,5 \pm 1,3 \times 10^9/\text{L}$ , что выходит за референсные значения, когда во второй  $11,2 \pm 0,8 \times 10^9/\text{L}$  и третьей группе  $13,1 \pm 1,3 \times 10^9/\text{L}$  стабилизировалось.

В первой группе абсолютное содержание гранулоцитов (GRA), после трех суток спустя оперативного вмешательства, составлял  $9,7 \pm 0,3 \times 10^9/\text{L}$ , во второй  $9,4 \pm 0,2 \times 10^9/\text{L}$ , в третьей  $9,3 \pm 0,8 \times 10^9/\text{L}$ . На пятнадцатые сутки в первой группе составляло  $10,7 \pm 0,2 \times 10^9/\text{L}$ , во второй  $9,5 \pm 0,3 \times 10^9/\text{L}$  и в третьей  $10,2 \pm 0,4 \times 10^9/\text{L}$ . На тридцатые сутки в первой группе данный показатель выходил за референсные значение  $11,5 \pm 0,2 \times 10^9/\text{L}$ , когда во второй  $7,2 \pm 0,3 \times 10^9/\text{L}$  и в третьей  $7,4 \pm 0,6 \times 10^9/\text{L}$  были в пределах нормы. Это говорит об антибактериальном действии разработанного композита.

Показатели клинического анализа крови, такие как эритроциты (RBC), гемоглобин (HGB), гематокрит (HCT) %, тромбоциты (PLT)  $\times 10^9/\text{L}$ , 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.

Биохимические показатели с микроэлементарным составом не выходили за референсные значения во всех группах за весь период времени проведения эксперимента, что характеризует отсутствие угнетения микроциркуляции в ренальной и гепатобилиарной системах и стабильное функционирование нервной системы, сокращение мышц, поддержание водного баланса, стабильность кровяного давления и сахара в крови.

Кроме того, нельзя не отметить, что нежелательные реакции, осложнения, аллергические реакции со стороны кроликов экспериментальных групп во время и после применения 1,5% и 2,0% остеопластического биокomпозиционного материала для ускорения консолидации переломов животных, отсутствовали.

#### **2.4.1.2. Рентгенографический контроль костной ткани у лабораторных животных (кролики) при применении остеопластического биокomпозиционного материала**

Рентгенографию проводили на 1-е, 3-и, 7-е, 15-е, 30-е, 45-е, 60-е сутки после оперативного вмешательства.

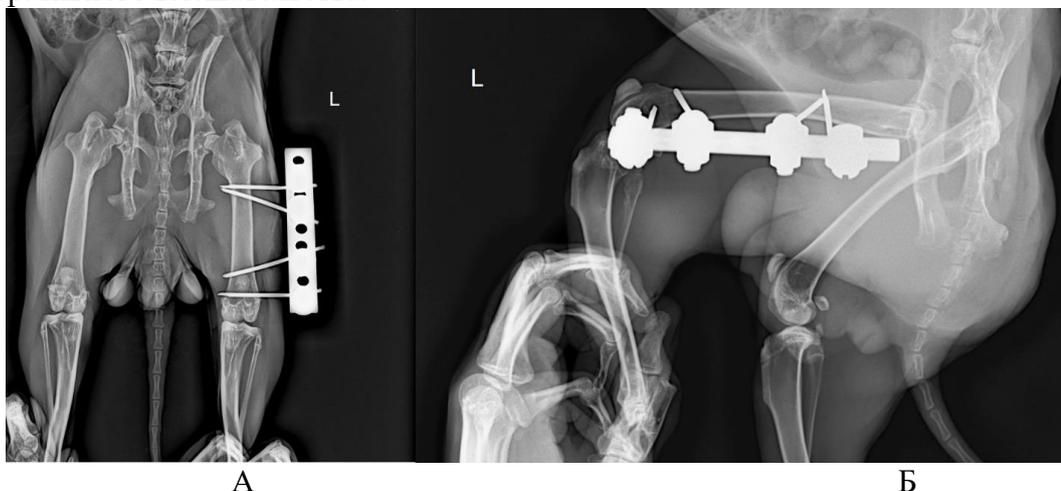
После начала эксперимента у всех опытных животных визуализируется поперечный перелом в средней трети диафиза бедренной кости. Края фрагментов имеют ровную поверхность, расстояние диастаза составляет до 0,4-0,5 мм. С 7-9 суток после оперативного вмешательства в зоне линии кортикотомии определяется периостальная реакция в виде облаковидных теней по краям фрагментов, постепенно уплотняющиеся к 17-19 суткам опытного периода.

У животных опытных групп формирование кортикального слоя оперируемой зоны отмечается спустя месяц, а уже полное сцепление с выраженной интермедиарной мозолью спустя 4,5 недели, а полная регенерация с спустя 6,5 недель (Рисунок 4).

В контрольной группе все вышеуказанные стадии консолидации данного перелома сформировались в течении 8,0-9,0 недель.

Объективных отличий в консолидации костей у опытных групп обнаружено не было, однако, в сравнении с контролем мы зарегистрировали сокращение времени на сращение смоделированных переломов на 19-27%.

При удалении аппаратов внешней фиксации совместно с рентгенографией у животных исследовали клиническую пробу на сращение, при которой не определялось какой-либо патологической подвижности спустя 6,5 недель в опытных и 8,0-9,0 недель в контрольной группах после оперативного вмешательства.



*Рисунок 4 – Рентгенограмма бедренной кости кролика: А – полная консолидация, дорзо-вентральная проекция; Б – полная консолидация, латеро-медиальная проекция*

#### **2.4.2. Специфическая остеорепаративная активность разработанного остеопластического биокomпозиционного покрытия для имплантов на лабораторных животных (кролики)**

##### **2.4.2.1. Динамика клиничко-биохимических изменений крови при применении остеопластического биокomпозиционного покрытия для имплантов у лабораторных животных (кролики)**

Объектом исследования являлись кролики породы Шиншилла (Пол: самцы; возраст: 9 месяцев; масса: 2,7-3,5 кг.). Предметом исследования являлась кровь лабораторных животных.

Кролики были объединены по принципу пар-аналогов в три группы по пять голов в каждой (n=5), где одна контрольная и две опытные группы.

В первой (контрольной) группе с учетом генерации прямого перелома бедренной кости слева в области средней трети диафиза (32-А3, по классификации переломов АО VET) производили интрамедуллярный остеосинтез.

Во второй (опытной) группе, после воссоздания экспериментальных переломов, интрамедуллярный остеосинтез осуществлялся имплантатами с 3,5% разработанным остеопластическим биокомпозиционным покрытием, состоящего из: 1 г гидроксипатита, 1 г метилурацила, 0,05 г амоксициллина, 3,5 г полилактида.

В третьей (опытной) группе, с учетом аналогичных условий эксперимента, использовались имплантаты с 5,0% разработанным остеопластическим биокомпозиционным покрытием, состоящего из: 1 г гидроксипатита, 1 г метилурацила, 0,05 г амоксициллина, 5,0 г полилактида.

Аспирацию крови у животных производился аналогично как в пункте 2.4.1.1.

Клинический анализ установил стандартный лейкоцитарный постоперационный ответ. В первые трое суток данный показатель повышен и в первой группе имел значение  $18,4 \pm 1,2 \times 10^9/L$ , во второй  $18,6 \pm 1,3 \times 10^9/L$ , в третьей  $19,4 \pm 1,6 \times 10^9/L$ . На пятнадцатые сутки данный показатель в первой группе составил  $17,9 \pm 1,1 \times 10^9/L$ , во второй  $16,9 \pm 1,1 \times 10^9/L$ , в третьей  $18,4 \pm 1,6 \times 10^9/L$ , однако, на 30 сутки после операции в первой группе этот показатель был  $16,5 \pm 1,3 \times 10^9/L$ , что выходит за референсные значения, тогда как во второй группе ( $12,2 \pm 0,8 \times 10^9/L$ ) и третьей группе ( $14,1 \pm 1,3 \times 10^9/L$ ) данные показатели стабилизировались.

Говоря о микрофагах и наличии септического процесса и бактериальной обсемененности, абсолютное содержание гранулоцитов (GRA) после трех суток спустя оперативные вмешательства составлял  $10,7 \pm 0,3 \times 10^9/L$ , во второй  $10,4 \pm 0,2 \times 10^9/L$ , в третьей  $10,3 \pm 0,8 \times 10^9/L$ . На пятнадцатые сутки в первой группе составляло  $11,7 \pm 0,2 \times 10^9/L$ , во второй  $10,5 \pm 0,3 \times 10^9/L$  и в третьей  $11,2 \pm 0,4 \times 10^9/L$ . На тридцатые сутки в первой группе данный показатель выходил за референсные значения  $12,5 \pm 0,2 \times 10^9/L$ , когда во второй  $7,2 \pm 0,3 \times 10^9/L$  и в третьей  $7,4 \pm 0,6 \times 10^9/L$  были в пределах нормы.

Эритроциты (RBC), гемоглобин (HGB), гематокрит (HCT) %, тромбоциты (PLT)  $\times 10^9/L$ , отвечающие за функциональную активность кроветворной системы и регенерацию поврежденных тканей (тромбоцитарный фактор роста PDGF), во всех группах, за весь опытный период оставались в пределах референса.

Биохимический анализ показал отсутствие цитологического, холестатического, нефротического, а также воспалительных процессов в гепатобилиарной и выделительной системы, не выходящим за референсные границы общего билирубина, АЛТ, АСТ, щелочной фосфатазы, коэффициент де Ритиса, концентрация холестерина, креатинина, мочевины.

Весь исследуемый микроэлементарный состав: калий (K), кальций (Ca), фосфор (P) во всех группах, за весь период времени проведения эксперимента не выходил за референсные значения, что характеризует стабильное функционирование нервной системы, сокращение мышц, поддержание водного баланса, стабилизацию кровяного давления и сахара в крови.

Нежелательных реакций или каких-либо осложнений со стороны макро- и микроорганизма целевых животных (кролики) при применении остеопластического биокомпозиционного 3,5% и 5,0% покрытия для имплантов обнаружено не было.

#### **2.4.2.2. Рентгенографический контроль костной ткани у лабораторных животных (кролики) при применении остеопластического биокомпозиционного покрытия для имплантов**

Рентгенографию проводили аналогично как в пункте 2.4.1.2.

После начала эксперимента у всех опытных животных визуализируется поперечный перелом в средней трети диафиза бедренной кости (Рисунок 8, 9). Края фрагментов имеют ровную поверхность, расстояние диастаза составляет до 0,2-0,3 мм. С 7-10 суток после оперативного вмешательства в зоне линии кортикотомии определяется периостальная реакция в виде облаковидных теней по краям фрагментов, постепенно уплотняющиеся к 14-17 суточного периода. В течение всего опытного периода определено стабильное состояние дистального и

проксимального фрагментов, интрамедуллярные спицы оставались в неподвижном состоянии без смещения.

У животных опытных групп формирование костного регенерата в зоне моделированной кортикотомии, состоящего из периостальной, интермедиарной и параоссальной костной мозоли отмечается через 4,0 недели

Полная консолидация смоделированного перелома диагностируется на 6,0 недели (Рисунок 5), однако, сращение данного перелома у животных контрольной группы диагностируется на 7,5-8,0 недели.

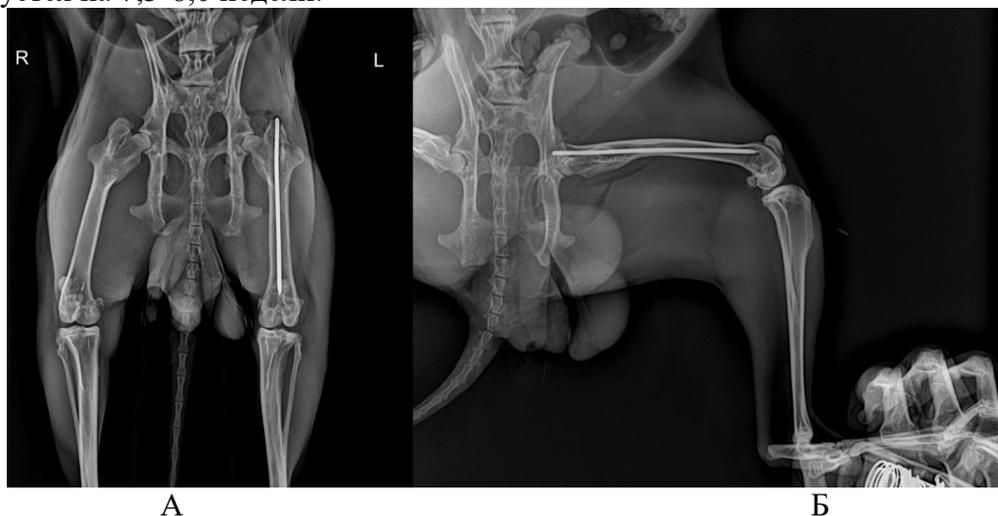


Рисунок 5 – Рентгенограмма бедренной кости кролика: А – полная консолидация, дорзо-вентральная проекция; Б – полная консолидация, латеро-медиальная проекция

Объективных отличий в консолидации костей между опытными группами с использованием 3,5% и 5,0% биокомпозиционного покрытия, обнаружено не было, однако, в сравнении с контролем мы зарегистрировали сокращение времени на сращение смоделированных переломов на 20-25%.

При удалении интрамедуллярных спиц согласно консолидации, подтвержденной рентгенографией, проводили клиническую пробу на сращение, при которой не отмечалось какой-либо патологической подвижности оперированной кости спустя 6,0 недель после оперативного вмешательства, так как к этому времени произошла консолидация. Удаление имплантов у опытных групп, производились спустя 6 недель, а в контрольной группе спустя 7,0–8,0 недель.

### **2.4.3. Специфическая остеорепаративная активность разработанного остеопластического биокомпозиционного материала на целевых животных (собаки)**

#### **2.4.3.1. Динамика клиничко-биохимических изменений крови при применении остеопластического биокомпозиционного материала у целевых животных (собаки)**

Объектом исследования являлись беспородные собаки (Возраст: 1 год; масса: 10-14 кг). Предметом исследования являлась кровь целевых животных.

Собаки были объединены по принципу пар-аналогов в три группы по пять голов в каждой (n=5), где одна контрольная и две опытные группы.

Всем группам, с целью изучения процессов остеорепаративной активности трубчатых костей, при применении разработанного остеопластического биокомпозиционного материала, моделировали прямой перелом лучевой кости справа в области средней трети диафиза (22-А3, по классификации переломов АО VET) с последующим внеочаговым остеосинтезом.

Во второй (опытной) группе после генерации экспериментального перелома в процессе внеочагового остеосинтеза применяли разработанный 1,5% ( $\approx 1,0 \text{ см}^3$ ).

В третьей (опытной) группе, с учетом аналогичных условий эксперимента, применяли разработанный 2,0% остеопластический биокомпозиционный материал ( $\approx 1,0 \text{ см}^3$ ).

Аспирацию крови у животных производили до проведения экспериментов, на 3-и, 15-е и 30-е сутки после оперативного вмешательства.

Интерпретируя клинический анализ крови, стоит отметить, что лейкоциты (WBC), в первые трое суток остеосинтеза повышены во всех группах, а к пятнадцатым суткам данный показатель снизился до референсных значений.

Абсолютное содержание гранулоцитов (GRA), отвечающее за контроль бактериальной обсемененности, в контрольной группе, на протяжении 30 суток выходил за рамки референса, однако в опытных группах оставался в норме благодаря наличию антибактериального действия биоматериала.

Эритроциты (RBC), гемоглобин (HGB), гематокрит (HCT), тромбоциты (PLT) во всех группах не выходили за референсные значения в течение 30 суток.

Согласно биохимическому анализу крови определено отсутствие каких-либо нарушений как в выделительной функции (мочевина, креатинин, Са, К, Р), так и гепатобилиарной системе (АЛТ, АСТ, ГГТ, общего билирубина), что характеризует отсутствие патологических, интоксикационных и воспалительных процессов при использовании разработанных материалов.

Аналогичное заключение по микроэлементарному составу. Калий (К), кальций (Са), фосфор (Р), магний (Mg), натрий (Na) во всех группах не выходили за референсные значения за весь период эксперимента, что говорит об отсутствии негативных факторов от остеопластического биокомпозиционного материала.

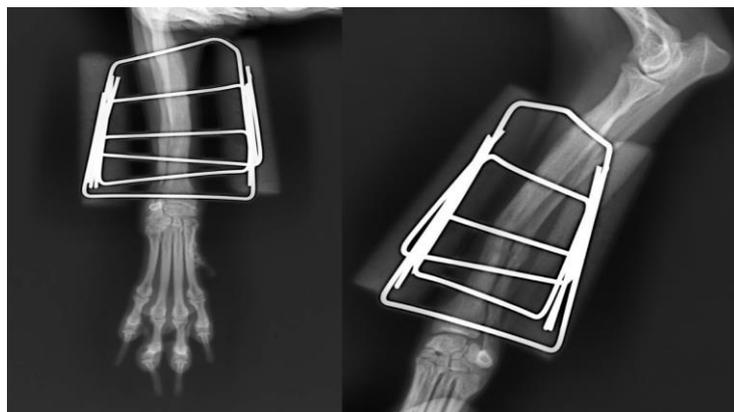
На основании проведенных исследований подтверждено отсутствие воспалительной, септической, аллергической, апластической, гепатотоксической и нефротоксической реакций со стороны макро- и микроорганизма животных при применении разработанного как 1,5%, так и 2,0% биокомпозиционного материала.

#### **2.4.3.2. Рентгенографический контроль костной ткани у целевых животных (собаки) при применении остеопластического биокомпозиционного материала**

Рентгенографию проводили на 1-е, 3-и, 7-е, 15-е, 30-е, 45-е, 60-е сутки после оперативного вмешательства.

После начала эксперимента у всех опытных животных визуализируется поперечный перелом в средней трети диафиза лучевой кости. Края фрагментов имеют ровную поверхность, расстояние диастаза составляет до 0,3-0,41 мм. С 6-10 суток после оперативного вмешательства в зоне линии кортикотомии визуализируется периостальная реакция в виде облаковидных теней по краям фрагментов, постепенно уплотняющиеся к 3,0 недели эксперимента.

В опытных группах образование нового кортикального слоя оперируемой зоны отмечается спустя месяц, а полное сцепление с выраженной интермедиарной мозолью формируется спустя 3,5 недели, а полная регенерация спустя 5,0 недель (Рисунок 6). В



А

Б

*Рисунок 6 – Рентгенограмма лучевой кости собаки: А – полная консолидация, dorзо-вентральная проекция; Б – полная консолидация, латеро-медиальная проекция*

При удалении аппаратов внешней фиксации совместно с рентгенографией исследовалась клиническая проба на сращение, при которой не определялось спустя 5,0 недель какой-либо патологической подвижности между фрагментами после оперативного вмешательства, так как к

контрольной группе все вышеуказанные стадии консолидации данного перелома сформировались в течении 2,0–2,5 месяцев.

Стоит отметить, что существенной разницы исследуемых параметров между второй и третьей опытной группами не определено, однако, в сравнении с контролем зарегистрировано сокращение времени на сращение смоделированного перелома на 20-22%.

этому времени произошла консолидация, при этом снятие аппаратов, у опытных групп, производились спустя 5,0-5,5 недель, а в контрольной группе – спустя 7,0-8,0 недель после оперативного вмешательства.

### 2.4.3.3. Гистологические изменения костного биопсийного материала при использовании остеопластического биокомпозиционного материала у целевых животных (собаки)

После консолидации смоделированных переломов, подтвержденных клиническим и рентгенологическим методом спустя 5,0-5,5 недель в опытных группах и 7,0-8,0 недель в контрольной, для гистологического исследования производилась аспирация костного регенерата зоны сращения костной ткани с помощью иглы для трепанобиопсии BEST LISAS.

При сравнительном рассмотрении гистотопографических препаратов костных регенератов у контрольной группы отмечается физиологическое морфологическое строение, представленное пластинчатой тканью, состоящей из Гаверсовых (вдоль) и Фолькмановских (поперек) каналов, расположенных в компактной и губчатой структуре, с достаточно большим количеством остеобластов, формирующих матрикс и остеоцитами, поддерживающими данный матрикс.

На рисунках 7,8 представлена гистологическая картина законсолидированной зоны моделированных переломов с учетом применения 1,5% и 2,0% биокомпозиционного остеопластического материала. Стоит отметить, что время потраченное на сращение составило 5,0-5,5 недель во всех опытных группах. На гистосрезях опытных групп отсутствует какое-либо количество разработанного композита, что свидетельствует о биосовместимости с полной биоинтеграцией без проявления аллергизирующего и цитостатического эффекта. Наличие большого количества остеонов, отличной васкуляризации и достаточного количества вставочных и генеральных пластинок говорит о законченном процессе консолидирования.

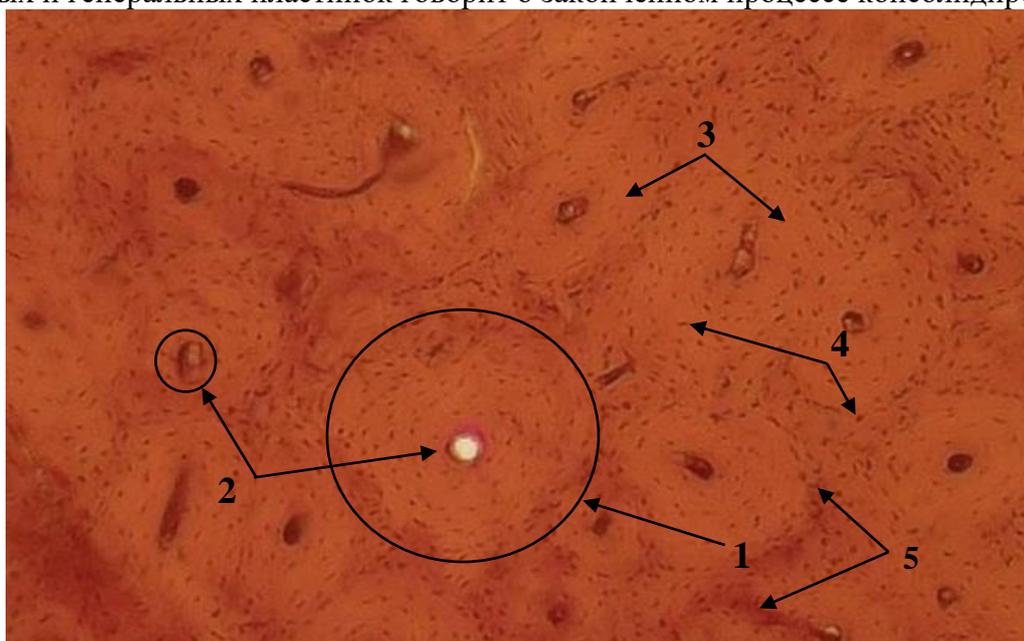


Рисунок 7 – Гистологическая картина костного регенерата животных I опытной группы. 1 – остеон; 2 – Гаверсов канал; 3 – матрикс; 4 – остеоцит; 5 – общий слой генеральных пластинок. Поперечный срез, окраска по методу Шморля, ув. X200

Следует отметить, что при использовании биокомпозита разной концентрации визуализируется восстановленная микроциркуляция с множеством физиологических гаверсовых каналов с кровеносными сосудами, нервной системой и адекватной трофикой тканей, при этом отсутствует фиброзная, склерозно-хрящевая ткань, что свидетельствует об ускоренном процессе репаративного остеогенеза за данный промежуток времени.

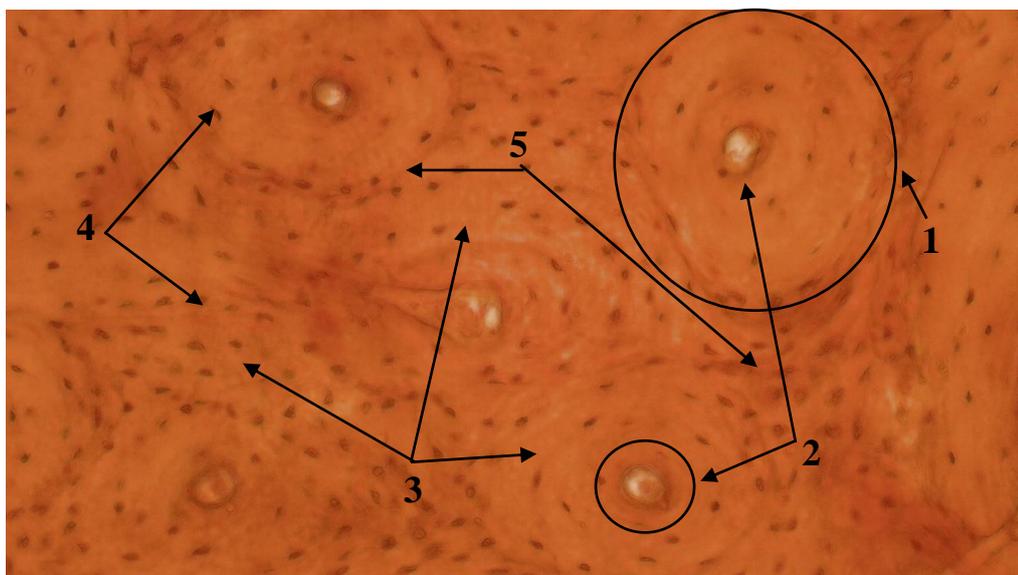


Рисунок 8 – Гистологическая картина костного регенерата животных II опытной группы. 1 – остеон; 2 – Гаверсов канал; 3 – матрикс; 4 – остеоцит; 5 – общий слой генеральных пластинок. Поперечный срез, окраска по методу Шморля, ув. X200

#### 2.4.3.4. Цитокиновый профиль сыворотки крови целевых животных (собаки) при применении остеопластического биокомпозиционного материала

Материалом для измерения уровня цитокинов ИЛ-1 $\beta$  (интерлейкин 1 бета), ИЛ-6, ФНО- $\alpha$  (фактор некроза опухолей), VEGF (фактор роста эндотелия сосудов) являлась сыворотка крови экспериментальных животных (собак). Аспирацию крови для исследования производили до проведения операции, на 3-и, 7-е, 14-е, 30-е, 45-е и 60-е сутки после неё. Получены следующие результаты (Таблица 1).

Таблица 1 – Динамика концентрации цитокинов в сыворотке крови экспериментальных животных при использовании биокомпозиционного материала ( $M \pm m$ ,  $n=15$ )

Срок, сутки	Концентрация цитокинов (пкг/мл)											
	Первая опытная группа, 1,5% материал $n=5$				Вторая опытная группа, 2% материал, $n=5$				Контрольная группа, $n=5$			
	ИЛ-1 $\beta$	ИЛ-6	ФНО- $\alpha$	VEGF	ИЛ-1 $\beta$	ИЛ-6	ФНО- $\alpha$	VEGF	ИЛ-1 $\beta$	ИЛ-6	ФНО- $\alpha$	VEGF
До операции	1,08 $\pm$ 0,08	0,57 $\pm$ 0,05	0,87 $\pm$ 0,07	9,67 $\pm$ 0,54	1,12 $\pm$ 0,09	0,55 $\pm$ 0,05	0,85 $\pm$ 0,08	9,34 $\pm$ 0,65	1,06 $\pm$ 0,11	0,51 $\pm$ 0,04	0,79 $\pm$ 0,06	9,58 $\pm$ 0,75
3 сутки	1,23 $\pm$ 0,11	1,33 $\pm$ 0,11*	0,98 $\pm$ 0,08	14,77 $\pm$ 1,11*	1,43 $\pm$ 0,11*	2,04 $\pm$ 0,15*	0,97 $\pm$ 0,07	20,16 $\pm$ 1,45	1,18 $\pm$ 0,14	0,84 $\pm$ 0,03	0,89 $\pm$ 0,08	11,40 $\pm$ 0,95
7 сутки	1,69 $\pm$ 0,12*	1,12 $\pm$ 0,08*	1,13 $\pm$ 0,09	**27,58 $\pm$ 1,91*	2,16 $\pm$ 0,19*	1,36 $\pm$ 0,11*	1,29 $\pm$ 0,11	**29,75 $\pm$ 1,56*	1,36 $\pm$ 0,13	1,2 $\pm$ 0,03	1,0 $\pm$ 0,12	17,48 $\pm$ 0,87
14 сутки	2,11 $\pm$ 0,18*	1,01 $\pm$ 0,07*	1,11 $\pm$ 0,08	**68,54 $\pm$ 4,32*	2,32 $\pm$ 0,21*	1,12 $\pm$ 0,09*	1,17 $\pm$ 0,12*	**68,70 $\pm$ 2,43*	1,68 $\pm$ 0,09	1,62 $\pm$ 0,06	1,11 $\pm$ 0,09	26,10 $\pm$ 0,95
30 сутки	2,15 $\pm$ 0,17*	0,92 $\pm$ 0,08*	1,05 $\pm$ 0,08	**83,82 $\pm$ 7,1*	2,40 $\pm$ 0,19*	0,99 $\pm$ 0,07	1,00 $\pm$ 0,09*	**75,15 $\pm$ 3,65*	2,1 $\pm$ 0,12	1,32 $\pm$ 0,05	1,15 $\pm$ 0,07	67,8 $\pm$ 0,86
45 сутки	1,78 $\pm$ 0,13*	**0,81 $\pm$ 0,07*	0,95 $\pm$ 0,09	**65,76 $\pm$ 4,8*	1,83 $\pm$ 0,11*	**0,80 $\pm$ 0,06*	0,97 $\pm$ 0,07	**53,32 $\pm$ 2,73*	2,32 $\pm$ 0,09	1,22 $\pm$ 0,04	1,12 $\pm$ 0,08	77,2 $\pm$ 0,81
60 сутки	1,31 $\pm$ 0,12	0,75 $\pm$ 0,05*	0,85 $\pm$ 0,07	43,21 $\pm$ 3,1*	1,39 $\pm$ 0,10	0,69 $\pm$ 0,06*	0,90 $\pm$ 0,08	41,12 $\pm$ 2,89*	1,92 $\pm$ 0,12	1,01 $\pm$ 0,05	1,06 $\pm$ 0,08	55,4 $\pm$ 0,65

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

\*\*Различие по данному показателю статистически достоверно между опытными группами животных на соответствующий день эксперимента ( $P \leq 0,05$ ).

Спустя 3-е суток после кортикотомии наблюдалось увеличение ФНО- $\alpha$  в первой опытной группе на 9,2%, во второй группе на 8,2% в сравнении с контрольной группой. Вместе с этим, на 7-е сутки зарегистрировали максимальное повышение на 11,5% в первой и 22,4% во второй опытных в сравнении с контрольными животными. К 30 суткам данный цитокин в контрольной

группе повысился до максимального значения ( $1,15 \pm 0,07$  пкг/мл), что на 8,7% превышал первую и 13,0% вторую опытные группы, после наблюдался вектор к стабилизации. Разница между максимальными значениями данного показателя по времени составляет 23 дня, что характеризует ускорение репаративного процесса в опытных группах. Данный показатель отвечает за наличие воспалительного процесса после оперативного вмешательства.

К 3 суткам фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) увеличился на 22,8% в первой, и на 43,5% во второй группе в сравнении с контрольным значением. К 7 суткам данный показатель превышал референсные значения клинически здоровых животных в 1,5 и 1,7 раза соответственно. Данный показатель VEGF к 14 суткам первой и второй опытных групп превышал контрольный в 2,6 раз. 30 сутки установили максимальное значение в опытных группах ( $83,82 \pm 7,1$  и  $75,15 \pm 3,65$  пкг/мл соответственно), тогда как в контрольной группе данный показатель достиг своего максимума к 45 суткам ( $77,2 \pm 0,81$  пкг/мл), после чего наблюдалась тенденция к стабилизации. Разница между максимальными значениями данного показателя по времени составляет 15 суток.

Третьи сутки экспериментов показали, что ИЛ-1 $\beta$  (интерлейкин 1 бета) в первой группе повысился на 4,1%, во второй на 17,5% в сравнении с контрольной группой. К 7 суткам следовало повышение на 19,5% и 37,1% соответственно. Самый высокий показатель данного цитокина в опытных группах зафиксирован на 30 сутки, он составил  $2,15 \pm 0,17$  и  $2,4 \pm 0,19$  пкг/мл соответственно, когда в контроле он достиг максимума к 45 суткам ( $2,32 \pm 0,09$  пкг/мл). Разница между максимальными значениями данного показателя по времени составляет 15 суток. Данное повышение характеризует активизацию остеокластов в зоне концов дистального и проксимального отломков.

Самое высокое значение ИЛ-6 (интерлейкин 6) в опытных группах зарегистрировали на третьи сутки эксперимента. В первой группе, данный цитокин, превышал на 36,8%, а во второй на 58,8% в сравнении с контрольным значением. Максимальное значение ИЛ-6 в контрольной группе установлено на 14 сутки ( $1,62 \pm 0,06$  пкг/мл), что характеризует разницу в 11 суток. После достижения максимума в каждой группе до конца эксперимента данный показатель имел тенденцию к понижению, возвращаясь к референсному значению, что в свою очередь характеризует снижение воспалительной реакции и переход к фазе регенерации.

#### **2.4.4. Специфическая остеорепаративная активность разработанного остеопластического биокомпозиционного покрытия для имплантов на целевых животных (собаки)**

##### **2.4.4.1. Динамика клинико-биохимических изменений крови при применении остеопластического биокомпозиционного покрытия для имплантов (собаки)**

Объектом исследования являлись беспородные собаки (Возраст: 1 год; масса: 10-14 кг). Предметом исследования являлась кровь целевых животных.

Собаки были объединены по принципу пар-аналогов в три группы по пять голов в каждой ( $n=5$ ), где одна контрольная и две опытные группы.

Всем группам, с целью изучения процессов остеорепаративной активности трубчатых костей, при применении разработанного остеопластического биокомпозиционного покрытия, моделировали, прямой перелом лучевой кости справа в области средней трети диафиза (22-А3, по классификации переломов АО VET) с последующим интрамедуллярным остеосинтезом.

Во второй (опытной) группе после генерации экспериментального перелома в процессе интрамедуллярного остеосинтеза применяли импланты с разработанным 3,5% остеопластическим покрытием.

В третьей (опытной) группе, с учетом аналогичных условий эксперимента, применяли разработанное 5,0% остеопластическое биокомпозиционное покрытие для имплантов.

Аспирацию крови у животных производился аналогично как в пункте 2.4.3.1.

Установлено отсутствие угнетения микроциркуляции в почках, что характеризует отсутствие нефротоксичности покрытия. Наряду с этим отсутствие изменений активности цитолитических ферментов АЛТ, АСТ, ГГТ, общего билирубина, 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 были обнаружены спустя месяц после начала эксперимента. Определено отсутствие септических процессов, гипоксии и анемического синдрома.

Кроме того, нельзя не отметить, что нежелательные реакции, осложнения, аллергические реакции со стороны животных экспериментальных групп во время и после применения остеопластического биокомпозиционного покрытия на имплантах отсутствовали.

#### **2.4.4.2. Рентгенографический контроль костной ткани у целевых животных (собаки) при применении остеопластического биокомпозиционного покрытия для имплантов**

Рентгенографию проводили аналогично как в пункте 2.4.3.2.

После оперативного вмешательства у всех опытных животных визуализируется поперечный перелом в средней трети диафиза лучевой кости. Края фрагментов имеют ровную поверхность, расстояние диастаза составляет до 0,1-0,2 мм. С 7-10 суток после оперативного вмешательства в зоне линии кортикотомии визуализируется периостальная реакция в виде облаковидных теней по краям фрагментов, постепенно уплотняющиеся к 2,5-3,0 недели эксперимента. В течении всего опытного периода определено стабильное состояние дистального и проксимального фрагментов, интрамедуллярные спицы оставались в неподвижном состоянии без смещения.

В опытных группах образование нового кортикального слоя оперируемой зоны отмечается спустя месяц, а уже полное сцепление и сращение костных участков с выраженной интермедиарной мозолью спустя 3,5 недели, а завершенная консолидация спустя 4,5-5,0 недель (Рисунок 9). В контрольной группе все вышеуказанные стадии консолидации данного перелома сформировались в течении 6,5 недель.

Стоит отметить, что существенной разницы между опытными группами, с использованием 3,5 и 5,0% биокомпозиционного покрытия не обнаружено, однако, в сравнении с контролем мы зарегистрировали сокращение времени на сращение смоделированного перелома на 25-27%.

При удалении интрамедуллярных спиц совместно с рентгенографией исследовали клиническую пробу на сращение, при которой не определялось какой-либо патологической подвижности между фрагментами спустя 4,5-5,0 недель после оперативного вмешательства, так как к этому времени произошла консолидация. Удаление имплантов, у опытных групп, производилось спустя 4,5-5,0 недель, а в контрольной группе спустя 7,0 недель.



Рисунок 9 – Рентгенограмма лучевой кости собаки (латеро-медиальная проекция): А – полная консолидация смоделированного перелома средней трети диафиза; Б – сразу после извлечения интрамедуллярного импланта

#### **2.4.4.3. Гистологические изменения костного биопсийного материала при использовании остеопластического биокомпозиционного покрытия для имплантов (собаки)**

После консолидации смоделированных переломов, подтвержденных клиническим и рентгенологическим методом спустя 4,5-5,0 недель в опытных группах и 7,0 недель в контрольной, для гистологического исследования после извлечения импланта производилась аспирация костного регенерата зоны сращения костной ткани с помощью иглы для трепанобиопсии BEST LISAS, по отработанной методике.

При сравнительном рассмотрении гистотопографических препаратов костных регенератов у контрольной группы отмечается физиологическое морфологическое строение, представленное пластинчатой тканью, состоящие 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.

На рисунках 10,11 представлена гистологическая картина законсолидированной зоны моделированных переломов с учетом применения 3,5 и 5,0% биокомпозиционного остеопластического покрытия для имплантатов.

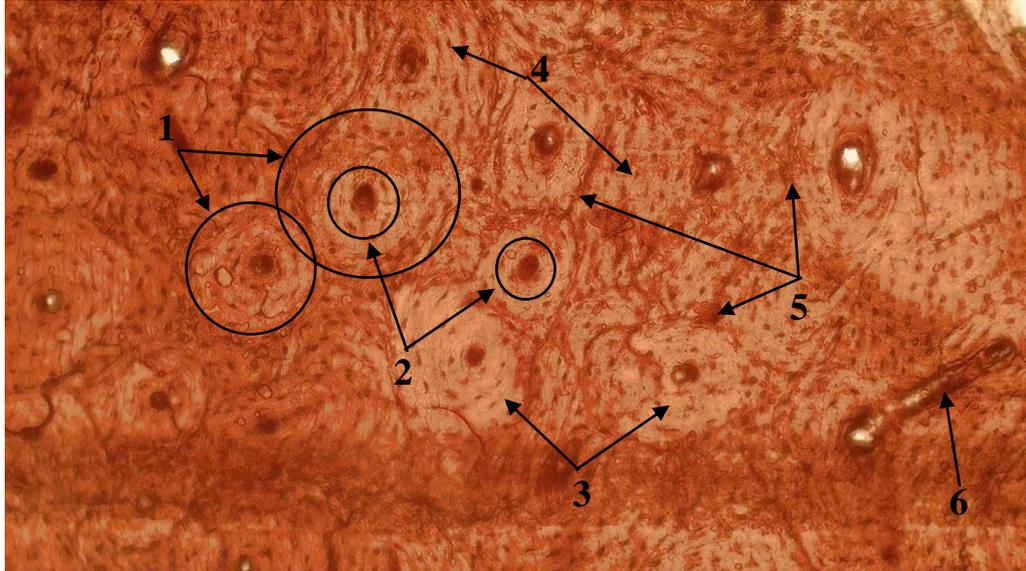


Рисунок 10 – Гистологическая картина костного регенерата животных I опытной группы. 1 – остеон; 2 – Гаверсов канал; 3 – матрикс; 4 – остеоцит; 5 – общий слой генеральных пластинок; 6 – канал Фолькмана. Поперечный срез, окраска по методу Шморля, ув. X200

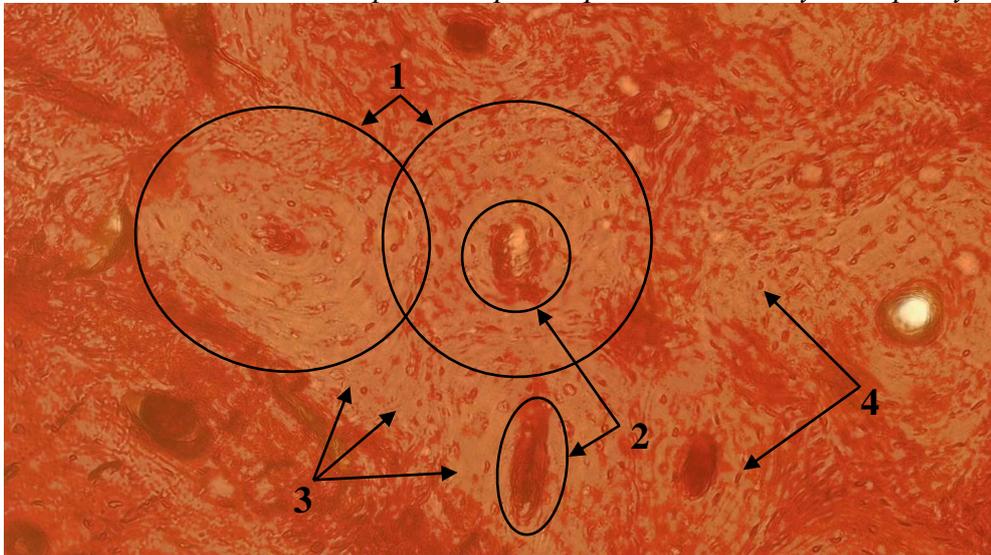


Рисунок 11 – Гистологическая картина костного регенерата животных II опытной группы. 1 – остеон; 2 – Гаверсов канал; 3 – матрикс; 4 – остеоцит. Поперечный срез, окраска по методу Шморля, ув. X200

На гистосрезах опытных групп отсутствует какое-либо количество разработанного покрытия, что свидетельствует о биосовместимости с полной биоинтеграцией без проявления аллергизирующего и цитостатического эффекта.

Наличие существенного количества зрелых остеонов, высокая степень васкуляризации и концентрации вставочных и генеральных пластинок, во всех опытных группах, не отличаются от контрольной, но образуются за меньший промежуток времени. Все это свидетельствует о

законченном цикле репаративного остеогенеза, а также об остеокондуктивности, и остеоиндуктивности разработанного биокомпозиционного покрытия.

#### 2.4.4.4. Цитокиновый профиль сыворотки крови целевых животных (собаки) при применении остеопластического биокомпозиционного покрытия для имплантов

Материалом для измерения уровня цитокинов ИЛ-1 $\beta$  (интерлейкин 1 бета), ИЛ-6, ФНО- $\alpha$  (фактор некроза опухоли), VEGF (фактор роста эндотелия сосудов) являлась сыворотка крови экспериментальных животных (собак). Аспирацию крови производили до проведения операции, на 3-и, 7-е, 14-е, 30-е, 45-е и 60-е сутки после неё.

Данное исследование методически осуществлялось в соответствии с пунктом 3.1 на ИФА анализаторе «Thermo Scientific Multiskan FC». Получены следующие результаты (Таблица 2).

Таблица 2 – Динамика концентрации цитокинов в сыворотке крови экспериментальных животных при использовании остеопластического биокомпозиционного покрытия для имплантов ( $M \pm m$ ,  $n=15$ )

Срок, сутки	Концентрация цитокинов (пкг/мл)											
	Первая опытная группа, 3,5% покрытие, n=5				Вторая опытная группа, 5% покрытие, n=5				Контрольная группа, n=5			
	ИЛ-1 $\beta$	ИЛ-6	ФНО- $\alpha$	VEGF	ИЛ-1 $\beta$	ИЛ-6	ФНО- $\alpha$	VEGF	ИЛ-1 $\beta$	ИЛ-6	ФНО- $\alpha$	VEGF
До операции	1,25 $\pm$ 0,09	0,60 $\pm$ 0,06	0,84 $\pm$ 0,08	10,61 $\pm$ 1,05	1,22 $\pm$ 0,11	0,58 $\pm$ 0,05	0,80 $\pm$ 0,07	10,08 $\pm$ 0,09	1,18 $\pm$ 0,11	0,51 $\pm$ 0,04	0,80 $\pm$ 0,06	9,68 $\pm$ 0,75
3 сутки	1,45 $\pm$ 0,13	1,21 $\pm$ 0,08*	0,95 $\pm$ 0,09	15,65 $\pm$ 1,32*	1,22 $\pm$ 0,09*	1,32 $\pm$ 0,12*	0,92 $\pm$ 0,08	16,18 $\pm$ 1,25*	1,19 $\pm$ 0,14	0,69 $\pm$ 0,03	0,90 $\pm$ 0,08	11,20 $\pm$ 0,95
7 сутки	1,96 $\pm$ 0,14*	0,98 $\pm$ 0,09*	0,96 $\pm$ 0,09	**28,14 $\pm$ 2,67*	2,12 $\pm$ 0,09*	0,97 $\pm$ 0,09*	0,97 $\pm$ 0,07	**20,34 $\pm$ 1,89*	1,35 $\pm$ 0,13	1,19 $\pm$ 0,03	0,91 $\pm$ 0,12	15,30 $\pm$ 0,87
14 сутки	2,32 $\pm$ 0,22*	0,85 $\pm$ 0,08*	1,21 $\pm$ 0,11	**71,62 $\pm$ 6,51*	2,28 $\pm$ 0,68*	0,93 $\pm$ 0,08*	1,15 $\pm$ 0,09*	**41,14 $\pm$ 3,65*	1,86 $\pm$ 0,09	0,99 $\pm$ 0,06	0,98 $\pm$ 0,09	26,3 $\pm$ 0,95
30 сутки	2,34 $\pm$ 0,51*	0,75 $\pm$ 0,07*	0,86 $\pm$ 0,07	**86,74 $\pm$ 6,7*	2,36 $\pm$ 0,87*	0,89 $\pm$ 0,09	0,85 $\pm$ 0,08*	**60,21 $\pm$ 5,41*	2,05 $\pm$ 0,12	0,95 $\pm$ 0,05	1,19 $\pm$ 0,07	45,5 $\pm$ 0,86
45 сутки	2,0 $\pm$ 0,19*	**0,65 $\pm$ 0,08*	0,93 $\pm$ 0,08	**63,45 $\pm$ 5,2*	2,10 $\pm$ 0,21*	**0,82 $\pm$ 0,08*	0,94 $\pm$ 0,09	**51,67 $\pm$ 4,89*	2,23 $\pm$ 0,09	0,83 $\pm$ 0,04	1,05 $\pm$ 0,08	72,3 $\pm$ 0,81
60 сутки	1,67 $\pm$ 0,16	0,62 $\pm$ 0,06*	0,82 $\pm$ 0,08	39,54 $\pm$ 2,6*	1,65 $\pm$ 0,45	0,72 $\pm$ 0,07*	0,83 $\pm$ 0,07	37,42 $\pm$ 3,45*	1,95 $\pm$ 0,12	0,76 $\pm$ 0,05	0,91 $\pm$ 0,08	62,3 $\pm$ 0,65

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

\*\* Различие по данному показателю статистически достоверно между опытными группами животных на соответствующий день эксперимента ( $P \leq 0,05$ )

Концентрация ФНО- $\alpha$  в сыворотке до операции во всех группах определялась в пределах от 0,80 $\pm$ 0,06 до 0,84 $\pm$ 0,08 пкг/мл. Спустя 3 суток после кортикотомии и последующего интрамедуллярного остеосинтеза наблюдалось увеличение данного цитокина в первой опытной группе на 5,3%, во второй опытной группе на 2,2% в сравнении с контрольной, однако, данные изменения не достоверны. Вместе с этим, 14 сутки зарегистрировали максимальное повышение ФНО- $\alpha$  в первой и второй опытной группах (1,21 $\pm$ 0,11 и 1,15 $\pm$ 0,09 пкг/мл соответственно), тогда как в контроле он достиг к 30 суткам (1,19 $\pm$ 0,07 пкг/мл). Разница между максимальными значениями данного показателя по времени составляет 16 суток, что характеризует ускорение репаративного процесса в опытных группах.

VEGF к 3 суткам увеличился на 28,4% в первой и на 30,7% во второй группе в сравнении с контрольным значением. К 7 суткам данный показатель превышал референсные значения контрольной группы в 1,8 и 1,3 раза соответственно. К 14 суткам VEGF первой и второй опытных групп превышал контрольную группу в 2,7 и 1,5 соответственно. В опытных группах определена тенденция роста данного показателя до 30 суток (86,74 $\pm$ 6,7 и 60,21 $\pm$ 5,41 пкг/мл в первой и второй опытной соответственно), после данный показатель стал снижаться. В контрольной группе максимальное значение установлено на 45 сутки и составило 72,3 $\pm$ 3,5 пкг/мл. Разница между максимальными показателями по времени составляет 15 суток. Стоит сказать, что разница между первой и второй опытной группами определена достаточно существенная. К 7 суткам эксперимента данный показатель в первой опытной группе был

достоверно выше на 27,7%, чем во второй, 14 сутки показали самую максимальную разницу в 42,5%, 30 сутки на 30,6%, уже к 45 суткам разница составила 18,6%, однако, к 60 суткам статистически достоверной разницы между первой и второй группами не наблюдалось.

ИЛ-1 $\beta$  (интерлейкин 1 бета) к третьим суткам эксперимента в первой группе повысился на 17,9%, во второй на 2,5% в сравнении с контролем. К 7 суткам следовало повышение на 31,1% и 36,3% соответственно. 30 сутки определили максимальное повышение ИЛ-1 $\beta$  в первой и второй опытной группе (2,34 $\pm$ 0,31 и 2,36 $\pm$ 0,2 пкг/мл соответственно), а в контрольной группе уже к 45 суткам (2,23 $\pm$ 0,09 пкг/мл). После достижения верхнего предела данный показатель имел тенденцию к стабилизации. Разница между максимальными показателями по времени составляет 15 суток.

ИЛ-6 (интерлейкин 6). Самое высокое значение данного показателя в опытных группах зарегистрировано на третьи сутки эксперимента. В первой группе, данный цитокин, превышал в 1,75, а во второй в 1,9 раза контрольное значение. Максимальное значение ИЛ-6 в контрольной группе установили на 7 сутки (1,19 $\pm$ 0,03 пкг/мл), при этом разница между предельными показателями по времени составляет 4 суток. Достоверных отличий между опытными группами животных на всем протяжении эксперимента по данному показателю не отмечалось, кроме 45 суток исследования, где наблюдали достоверно более высокие значения ИЛ-6 у собак второй опытной группы.

## **2.5. Терапевтическая остеорепаративная эффективность остеопластического биокомпозиционного материала и покрытия для имплантов в клинической практике**

Объектом клинического исследования являлись 434 собаки и кошки с диафизарными нарушениями анатомической целостности костей, замедленной консолидацией, псевдоартрозами, получившие травматологическую помощь на базе ветеринарной клиники DoctorVet (г. Саратов) с 2020 по 2024 год.

Из них 225 животных, которым осуществлялось лечение с учетом использования наших разработок и установок, определили в основную группу. Контрольная группа составляла 209 животных, получивших лечение традиционно зарекомендованными методами, без использования наших разработок. Объемность материала определена намерением содержательнее сформировать статистическую достоверность. Статистика определена возрастными отличиями, видом переломов, способом, объемом и эффективностью проведенного лечения. Возраст исследуемых пациентов определен от 2 месяцев до 15 лет.

Из 434 животных 311 составляли собаки (71,7%), а также 123 кошек, формирующие 28,3% от общего числа, стабильного состояния с патологическими нарушениями анатомической целостности трубчатых костей, псевдоартрозом и несращением. Превалирующее большинство пациентов (395–91%) обратились за квалифицированной помощью от 1 до 24 часов после травмы, остальные 39 (9%) до 5,5 месяцев.

Кобелей было 186 (42,9%), сук 125 (28,8%), котов 70 (16,1%) и кошек 53 (12,2%). Среди кобелей, котов и кошек превалировали численно те, кому было от 6 до 18 месяцев, что составило 12,8% и 4,7%, 3,3% соответственно, среди сук данный показатель характеризовал возрастной период от 1,5 до 4,9 лет, что составил 7,8% от всего количества пациентов.

Из 225 пациентов основной группы перелом предплечья был у 65 (28,8%), плеча 47 (20,9%), бедра 63 (28%) и голени 50 (22,3%) (Таблица 3). Из 209 пациентов контрольной группы перелом предплечья был у 60 (28,8%), плеча 44 (21,2%), бедра 59 (28,2%) и голени 46 (21,9%) (Таблица 3). При этом основная группа содержала 21 пациента (9,4%) с замедленной консолидацией / псевдоартрозами насчитывалось, а в контрольной группе 18 пациентов, что составляет 8,7%.

Главенствующим фактором в нарушении целостности костей является кататравма, где в основной группе данный фактор составляет 67,6% и в контроле 61,7%, на втором месте автотравма 18,7% и 20,7%. На третьем месте, составляющем 13,7% и 17,6% у основной и контрольной групп, причиной переломов трубчатых костей является бытовой травматизм, неумышленное физическое воздействие со стороны человека (наступить, сесть, перевернуться на кровати), а также умышленное физическое воздействие (агрессия, злость).

Таблица 3 – Нозология нарушения целостности костной структуры основной и контрольной групп пациентов

Всего	434 нарушения, из них:		395 переломов, из них:		39 псевдоартрозов, из них:	
	Основная группа	Контр. группа	Основная группа	Контр. группа	Основная группа	Контр. группа
Предплечье 125	65 (28,8%)	60 (28,8%)	57 (25,3%)	54 (25,8%)	8 (3,5%)	6 (2,9%)
Плечо 91	47 (20,9%)	44 (21,2%)	44 (19,5%)	41 (19,6%)	3 (1,4%)	3 (1,5%)
Бедро 122	63 (28%)	59 (28,2%)	59 (26,3%)	55 (26,3%)	4 (1,8%)	4 (1,9%)
Голень 96	50 (22,3%)	46 (21,9%)	44 (19,5%)	41 (19,6%)	6 (2,7%)	5 (2,4%)

Все переломы у пациентов основной и контрольной групп распределены по зонам и виду плоскости излома. При переломах костей предплечья преобладали поперечные нарушения дистальной трети, переломы плечевой кости, в большинстве характеризовались оскольчатыми и поперечными типами нарушений. Нарушения целостности бедренных костей характеризовались всеми перечисленными видами переломов средней трети диафиза кости, также, как и переломы голени. Стоит отметить, что все перечисленные нарушения имели закрытый вид перелома.

За обозначенный промежуток времени нами диагностировано, прооперировано и классифицировано 434 пациента как первичного обращения с нарушением анатомической целостности костной структуры, так и с замедленной консолидацией и псевдоартрозами.

Контрольная группа состояла из 209 пациентов (91,3%), где у 191 пациента диагностировалось первичные нарушения анатомической целостности трубчатых костей и 18 пациентов (8,7%) с псевдоартрозом. В зависимости от вида и локализации перелома осуществлялись различные виды остеосинтеза: внеочаговый, интрамедуллярный и комбинированный. Выбор данных методов определен простотой использования и экономичностью для проведения сравнительного анализа.

Следует сказать, что внеочаговый остеосинтез (АВФ, аппарат внешней фиксации) в контрольной группе использовался у 84 пациентов, интрамедуллярная стабилизация с наложением АВФ у 113 пациентов и только интрамедуллярный остеосинтез применялся в 12 случаях (Таблица 4).

Таблица 4 – Вид применяемого остеосинтеза в соответствии от локализации костных нарушений (контрольная группа)

Вид остеосинтеза	Трубчатая кость				
	Предплечье	Плечо	Бедро	Голень	Всего
АВФ	18 (8,5%)	11 (5,3%)	10 (4,8%)	45 (21,5%)	84 (40,1%)
Комбинированный	36 (17,5%)	33 (15,8%)	43 (20,6%)	1 (0,4%)	113 (54,3%)
Интрамедуллярный	6 (2,8%)	-	6 (2,8%)	-	12 (5,6%)
Всего 209 (100%)	60 (28,8%)	44 (21,1%)	59 (28,2%)	46 (21,9%)	209 (100%)

Опытная группа животных характеризовалась тем, что в процессе хирургического лечения применяли 1,5% остеопластический биокомпозит при установки АВФ и импланты с 3,5% остеопластическим биокомпозиционным покрытием для комбинированного остеосинтеза (синергия интрамедуллярного и внеочагового остеосинтеза), а также отдельно в интрамедуллярной фиксации отломков (Таблица 5).

Таблица 5 – Вид применяемого остеосинтеза в соответствии от локализации костных нарушений (опытная группа)

Вид остеосинтеза	Трубчатая кость				
	Предплечье	Плечо	Бедро	Голень	Всего
АВФ	44 (19,5%)	12 (5,4%)	20 (8,8%)	36 (16%)	112 (49,7%)
Комбинированный	17 (7,5%)	35 (15,5%)	37 (16,5%)	14 (6,3%)	103 (45,8)
Интрамедуллярный	4 (1,8%)	-	6 (2,7%)	-	10 (4,5%)
Всего 225 (100%)	65 (28,8%)	47 (20,9%)	63 (28%)	50 (22,3%)	225 (100%)

Внеочаговый остеосинтез (АВФ) в опытной группе применялся у 112 животных, интрамедуллярная стабилизация с наложением АВФ – у 103 пациентов и только интрамедуллярная стабилизация применялась в 10 случаях.

Интерпретируя таблицу 6 можно сделать следующее заключение:

Средний временной интервал на консолидацию переломов пациентов 2,0-5,9 месячного возраста в опытной группе при использовании АВФ составил  $31,8 \pm 2,91$  суток, тогда как в контрольной группе данный показатель составил  $41,6 \pm 3,49$ . Разница в восстановлении анатомической целостности костей при применении 1,5% биокомпозиционного остеопластического материала составила 23,5%.

При использовании комбинированного остеосинтеза, с использованием 3,5% биокомпозиционного остеопластического покрытия на имплантах у пациентов данной возрастной группы среднее время на сращение составило  $32,0 \pm 3,34$  суток, в контрольной выборке  $40,2 \pm 4,16$ , где разница определена в 20,4%.

При применении интрамедуллярного остеосинтеза, где использовалось 3,5% биокомпозиционное остеопластическое покрытие на имплантах, данный показатель в указанной группе как  $27,5 \pm 1,29$  суток, а в контроле  $43,5 \pm 1,29$  суток. Разница составляет 36,7%.

Остеосинтез у 6-18 месячных пациентов показал, что при использовании АВФ и 1,5% биокомпозита в зоне интрамедуллярного пространства костного нарушения срок сращения составил  $38,7 \pm 4,98$  суток, тогда как в контроле данное значение составило  $49,4 \pm 2,39$  суток, что на 21,6% больше.

При применении комбинированного остеосинтеза, у 6-18 месячных пациентов, среднее время на консолидацию в опытной группе, с использованием покрытия на имплантах, составило  $40,0 \pm 2,21$  суток, тогда как в контроле  $51,4 \pm 4,04$ , что на 22,2% быстрее.

При применении интрамедуллярного остеосинтеза в данном возрастном интервале время, необходимое на сращение переломов, в опытной группе, составило  $40,5 \pm 1,29$  суток, в контроле данное значение  $52,0 \pm 2,57$ , что на 22% больше, чем в опытной.

Остеосинтез пациентов 1,5-4,9-летнего возраста показал, что при применении АВФ с 1,5% биокомпозитом, время, необходимое на консолидацию, составило  $44,6 \pm 2,11$  суток в опытной группе и  $56,8 \pm 0,61$  в контрольной, что на 21,4% больше, чем в опытной.

Применение комбинированного остеосинтеза с разработанным покрытием показало, что в опытной группе затрачиваемое время на сращение составило  $42,6 \pm 1,03$ , тогда как в контроле оно составляло  $54,4 \pm 1,33$ , что на 21,7% меньше, чем в контрольной.

Интрамедуллярный остеосинтез в данной возрастной группе проводился только в опытной группе и время, затраченное на консолидацию переломов, составило  $42,5 \pm 3,86$  суток.

У пациентов 5,0-9,5 – летнего возраста, получивших квалифицированную помощь в опытной группе, где использовался АВФ с разработанным биокомпозитом, время на консолидацию составило  $43,4 \pm 2,74$  суток, тогда как в контрольной группе данный показатель составлял  $61,4 \pm 2,44$ , что на 29,3% меньше, чем в контрольной.

Комбинированный остеосинтез у пациентов данной возрастной группы с разработанным 3,5% биокомпозиционным покрытием для имплантов способствовал сращению костной ткани за  $43,5 \pm 2,8$  суток, тогда как без использования данного покрытия в контрольной группе данный аспект составил  $61,5 \pm 3,52$ , что на 29,3% больше, чем в опытной группе.

При использовании интрамедуллярного остеосинтеза у пациентов в данной возрастной выборке консолидация переломов происходила на  $45,5 \pm 1,29$  сутки в опытной и на  $58,5 \pm 1,29$  сутки в контрольной группе, что характеризует увеличение сроков сращения на 22,2%.

Остеосинтез пациентов 10-14,9-летнего возраста показал, что при использовании АВФ с 1,5% биокомпозитом, время необходимое на консолидацию, составило  $44,6 \pm 1,24$  суток в опытной группе и  $63,6 \pm 1,72$  в контрольной, что на 29,8% больше, чем в опытной.

При применении комбинированного остеосинтеза, с использованием 3,5% биокомпозиционного остеопластического покрытия на имплантах, у пациентов данной возрастной группы среднее время на консолидацию составило  $45,5 \pm 1,68$  суток, в контрольной выборке  $60,4 \pm 6,94$ , где разница определена в 24,7%.

Таблица 6 – Средний срок консолидации переломов опытной и контрольной групп всех видов животных

Возраст	Метод	Предплечье				Плечо				Бедро				Голень			
		О		К		О		К		О		К		О		К	
		Кол-во	Сутки	Кол-во	Сутки	Кол-во	Сутки	Кол-во	Сутки	Кол-во	Сутки	Кол-во	Сутки	Кол-во	Сутки	Кол-во	Сутки
2-5,9 месяцев	АВФ	3	29± 1,48	4	39,8± 1,93	3	31± 0,86	1	41	6	33,8± 1,54	2	40,± 3,86	6	33,5± 1,54	9	45,6± 2,45
	Ком.	2	28,5± 1,29	6	37± 0,94	5	31,8± 0,96	1	42	3	33,3± 0,86	3	41,7± 3,73	2	34,5± 1,29	-	-
	И	2	27,5± 1,29	1	40	-	-	-	-	-	-	-	2	43,5± 1,29	-	-	-
6-18 месяцев	АВФ	14	34,8± 1,05	8	47± 1,09	3	44± 1,48	3	52± 1,48	3	38,5± 1,29	2	52± 2,57	6	37,4± 1,76	12	46,5± 2,67
	Ком.	4	38± 1,05	8	49,3± 1,87	8	42,1± 1,13	11	54,5± 1,52	13	40,5± 0,99	11	50,5± 0,72	5	39,5± 1,06	-	-
	И	1	40	1	53	-	-	-	-	3	41± 1,48	3	51± 1,82	-	-	-	-
1,5-4,9 лет	АВФ	10	44,4± 1,44	2	57,5± 1,29	3	46± 1,48	2	56,5± 1,29	4	42,3± 0,8	3	57± 1,48	4	45,5± 1,95	8	56,7± 1,95
	Ком.	3	42± 1,48	9	54,9± 1,09	6	43,7± 1,95	4	55± 1,05	9	42± 1,05	14	53,4± 2,34	6	42,7± 1,46	-	-
	И	1	44	-	-	-	-	-	-	1	41	-	-	-	-	-	-
5-9,5 лет	АВФ	9	40,6± 1,43	3	62,3± 0,86	2	45,5± 1,29	-	-	3	43± 2,27	2	59,5± 1,29	9	44,5± 2,25	9	62,4± 1,38
	Ком.	4	42± 1,48	10	60,6± 1,22	10	42,8± 1,14	13	65,4± 1,35	8	45,6± 1,45	4	61± 1,48	-	-	1	59
	И	-	-	2	58,5± 1,29	-	-	-	-	2	45,5± 1,29	1	60	-	-	-	-
10-14,9 лет	АВФ	8	43,9± 1,57	1	62	1	46	5	65± 1,15	4	44± 1,05	1	63	11	44,6± 3,45	7	64,3± 1,34
	Ком.	4	46± 1,05	3	60± 1,48	6	43,5± 1,1	4	63,8± 1,23	4	46,3± 2,19	11	69,3± 2,45	1	46	-	-
	И	-	-	2	61± 2,57	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Примечание: О – опытная группа; К – контрольная группа; АВФ – аппарат внешней фиксации; Ком. – комбинированный остеосинтез; И – интрамедуллярный остеосинтез.

Интрамедуллярный остеосинтез, в данной возрастной группе, проводился только в контрольной группе и время, затраченное на консолидацию переломов, составило  $61,0 \pm 2,57$  суток.

Стоит отметить, что в данную таблицу 37 также входили пациенты с замедленной консолидацией и псевдоартрозами, обратившиеся за квалифицированной помощью в вышеуказанную ветеринарную клинику к данному специалисту травматологу-ортопеду, хирургу, и результат консолидации входил в общее заключение.

Сравнительная характеристика результатов лечения животных основной и контрольной групп определила статистически объективно значимые отличия в времени сращения костных нарушений и возобновления трудоспособности.

## **2.6. Травматологические устройства оптимизации остеосинтеза: костодержатель, распатор и ортопедический дистрактор для животных**

Как правило, многовековой практикой хорошо себя зарекомендовали общие хирургические инструменты, включающие в себя инструменты для разъединения и соединения тканей, захвата тканей, расширяющие раны и естественные отверстия, которые отвечают тенденциям современного времени, однако, для оказания хирургической помощи травматологического профиля этого недостаточно. Есть области, требующие разработки нового инструментария, обеспечивающего освобождение и мобилизацию отломков кости от склерозных тканей, или для под-надкостничного выделения, дистракцию и компрессию отломков кости, временную стабилизацию и удержание костей при проведении остеосинтеза.

В связи с этим нами разработаны: костодержатель, распатор и ортопедический дистрактор для животных, отвечающие тенденциям современных задач в области травматологии.

### **2.6.1. Костодержатель ветеринарный**

Изобретение (Патент № 2800019) относится к ветеринарной медицине, в частности, хирургическому инструментарию, применяемому в травматологии и ортопедии при вмешательствах на костной системе.

Разработанный костодержатель обеспечивает стабильную, временную фиксацию костных фрагментов с возможностью установки имплантов (винты и спицы для остеосинтеза), не ослабляя временной фиксации. На рисунке 12 представлен костодержатель, где: 1 – окончатые губки с плавным изгибом и зубчиками на их вогнутой поверхности, 2 – пружинный замок, 3 – насечки на рукоятке, 4 – спонгиозный стержень, 5 – резьба стержня, 6 – гайка с ромбовидной накаткой, 7 – стопорный ограничитель.

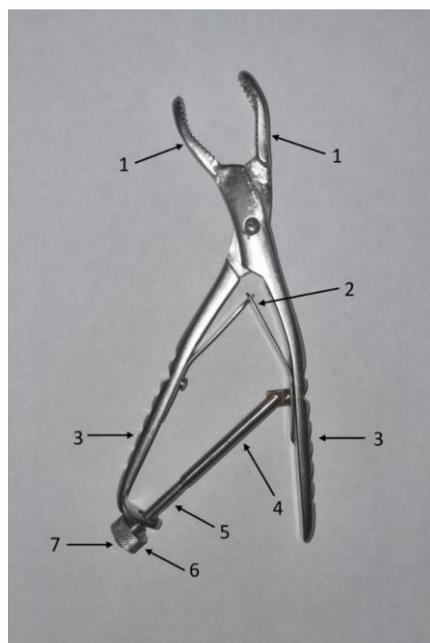


Рисунок 12 – Костодержатель

Данный костодержатель способен обеспечивать захват и удержание в репозиционном положении костных отломков не только при продольной, спиральной или косой, но и при поперечной плоскости перелома.

Костодержатель характеризуется тем, что он снабжен двумя окончатыми изогнутыми губками с зубчиками на внутренней поверхности. Длина рабочих губок 30,0 мм, ширина в самой широкой части 15,0 мм, толщина 3,0 мм, раскрытие губок 25,0 мм. Длина костодержателя для животных 185 мм, ширина рукояток 10,0 мм, толщина рукояток 5,0 мм. Длина винтообразной кремальеры 80,0 мм, диаметр 6,0 мм, диаметр гайки кремальеры 7,0 мм. Насечки на ручках обеспечивают отсутствие скольжения во время проведения хирургического вмешательства с возможностью создания усиленного воздействия на инструмент хирургом. Изобретение обеспечивает возможность atraumaticно произвести репозицию костных отломков за счет дозированной и постепенной нагрузки с помощью винтообразной кремальеры.

### 2.6.2. Хирургический распатор для животных

Изобретение (Патент № 2784814) относится к ветеринарной медицине, в частности, хирургическому инструментарию, применяемому в травматологии, ортопедии, мягкотканой и зубочелюстной хирургии при вмешательствах на костях, суставах и зубочелюстной системе.

На рисунке 13 представлен общий вид хирургического распатора, где: 1 – первая рабочая часть, обладающей вогнуто-выпуклой фронтальной и сагиттальной плоскостями и торцевой режущей кромкой по выпуклой и вогнутой поверхностям, 2 – выемка на рукоятке, 3 – накатка на рукоятке, 4 – вторая рабочая часть, представленная плоско-выгнутым клином с тупоконечной заточкой.

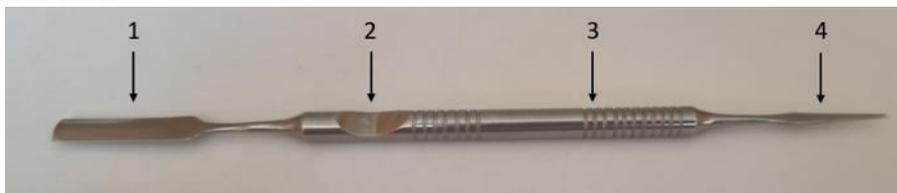


Рисунок 13 – Распатор

Разработанный хирургический распатор характеризуется тем, что снабжен двумя рабочими частями и рукояткой между ними с выемкой под палец и накаткой. Накатка и выемка на ручке обеспечивают отсутствие скольжения во время проведения хирургического вмешательства с возможностью создания усиленного воздействия на инструмент хирургом.

Первая рабочая часть выполнена толщиной 1,5 мм, шириной 6,0 мм, длиной 30,0 мм, обладающей вогнуто-выпуклой фронтальной и сагиттальной плоскостями и торцевой режущей кромкой по выпуклой и вогнутой поверхностям с заточкой 20-25°. Вторая рабочая часть, выполненная толщиной 1,5 мм, представлена плоско выгнутым клином в проксимальной части и имеет ширину 3,0 мм, а в самой дистальной части 1,0 мм с тупоконечной заточкой. Длина хирургического распатора для животных 160 мм, диаметр рукоятки 6 мм, длина первой рабочей части 30 мм, ширина 6 мм (вогнуто-выпуклая по фронтальной и сагиттальной плоскостям), толщина 1,5 мм. Длина второй рабочей части 20 мм, ширина в проксимальной части 3,0 мм, а в дистальной тупо заканчивающейся части 1,0 мм, а толщина 1,5 мм.

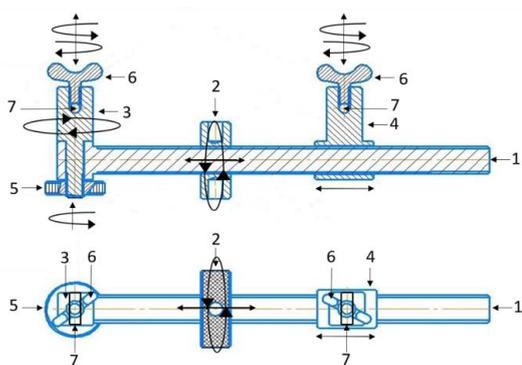
Данный распатор обеспечивает изолирование надкостницы, хрящевых и фиброзных тканей от костной структуры и зубов, отделение и отведение сухожильно-связочного аппарата, а также мягкотканых структур, нервов, сосудов, слизистой, имеется возможность использовать распатор как манипулятор. Данный хирургический инструмент обеспечивает полноценную визуализацию, снижение физических усилий на инструмент и атравматизацию в оперируемой области с достижением максимальной результативности хирургического вмешательства.

### 2.6.3. Костный ортопедический дистрактор для животных

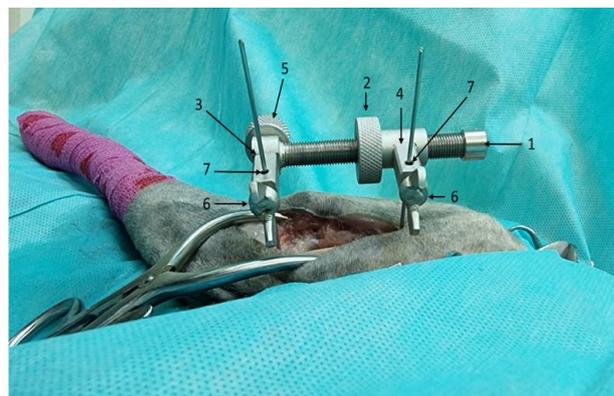
Изобретение (Патент № 2779002) относится к ветеринарной хирургии и предназначено для точечной репозиции в лечении переломов трубчатых костей, при патологическом смещении по длине и ширине проксимального и дистального фрагментов, как мелких непродуктивных, так и сельскохозяйственных животных.

На рисунке 14 представлена схема костного ортопедического дистрактора (вид сбоку и сверху с механизмами вращения и движения составных частей), а также установленный дистрактор на костную структуру, где: 1 – винт, 2 – гайка винта, 3 – держатель спицы (вращающийся вдоль своей оси), 4 – держатель спицы (перемещающийся слева на право), 5 – контрящий элемент, гайка (контргайка), 6 – винт (барашковый), 7 – отверстие под спицы.

Разработанный костный ортопедический дистрактор характеризуется тем, что он снабжен двумя держателями спицы, один из них вращающийся, а другой перемещающийся на винте с мелким шагом метрической резьбы за счет гайки винта. Мелкий шаг резьбы позволяет легче осуществить точную регулировку. И при этом в мелкой резьбе из-за меньшего угла наклона витков резьбы при перемещении гайки и держателя спицы по винту прилагается меньшее усилие, а также прочнее фиксация деталей на откручивание при вибрациях.



А



Б

Рисунок 14 – А – Схема костного ортопедического дистрактора (вид сбоку и сверху с механизмами вращения и движения составных частей); Б – Установленный дистрактор на дистальном и проксимальном фрагментах кости (параллельное расположение спиц)

На держателях имеются винты (барашки) для закрепления спиц в параллельном положении, также за счёт вращающегося держателя возможна фиксация одной спицы под углом. Винты (барашки) позволяет быстро, без вспомогательного инструмента закрепить спицу в дистракторе, экономя при этом время установки дистрактора и сокращения времени проведения операции.

Данный инструмент обеспечивает возможность измеримого, постепенного и контролируемого растяжения проксимального и дистального фрагмента кости, для последующего проведения остеосинтеза.

Анализируя вышеизложенное, следует отметить достоинства разработанного травматологического инструментария.

Костодержатель (Патент № 2800019) имеет существенные преимущества при проведении остеосинтеза: ширина рабочей части составляет 15,0 мм, следовательно, более широкое распределение нагрузки на поверхность костных фрагментов; отсутствие ротационной подвижности костных фрагментов благодаря вогнутости и наличию зубчиков рабочих губок; наличие окон на рабочих поверхностях губок дает возможность производить остеоперфорацию имплантами, не утрачивая репозиционного положения костных фрагментов; наличие винтовой кремальеры обеспечивает возможность контролируемой нагрузки на костные фрагменты; наличие насечек на рукоятках костодержателя обеспечивает отсутствие скольжения во время проведения хирургического вмешательства.

Хирургический распатор для животных (Патент № 2784814) имеет существенные преимущества: увеличивает визуализацию оперируемой области благодаря малогабаритным размерам; обеспечивает проведение большого ряда манипуляций для сопоставления, отведения, препарирования тканей из-за наличия нескольких рабочих частей с разными формами.

Преимуществом костного ортопедического дистрактора для животных (Патент № 2779002) является осуществление надежной, малотравматичной дистракции проксимального и дистального фрагмента кости при смещении по ширине и длине. При этом обеспечивается достаточна дозированная нагрузка в нужном направлении и не происходит травматизация окружающих тканей.

### 2.7. Нейромышечная реабилитация мелких непродуктивных животных

Оказывая травматологическую помощь пациентам с нарушениями трубчатых костей (предплечье, плечо, бедро, голень) с различными сегментами (верхняя, средняя, нижняя треть) и типами переломов (поперечный, косой, винтообразный, оскольчатый) мы столкнулись с необходимостью комплексного подхода в восстановлении опорно-двигательного аппарата, сочетающего в себе правильную тактику хирургического лечения и постоперационную реабилитацию, улучшающего качество жизни животных.

При помощи миотометрии нами определен референс тонуса четырех мышц от 10 физиологически здоровых собак (*m. triceps brachii, caput laterale*; *m. extensor digitalis communis*; *m. biceps femoris*; *m. tibialis cranialis*) (Таблица 7). Миотометрия производилась в состоянии

покоя и максимального напряжения, после 5-7 минутной пробежки на электрической беговой дорожке для собак Vetbot-253.2 на скорости 5 км/ч, в горизонтальном положении.

Таблица 7 – Тонус мышц физиологически здоровых собак в покое и напряжении (n=10)

Исследуемая мышца	Состояние покоя		Состояние напряжения	
	Лежачее положение			
	Справа	Слева	Справа	Слева
m. triceps brachii	0,53±0,13	0,54±0,16	1,69±0,23	1,72±0,27
m. extensor digitalis communis	0,47±0,12	0,46±0,13	1,41±0,29	1,39±0,31
m. biceps femoris	0,51±0,15	0,52±0,15	1,73±0,25	1,78±0,29
m. tibialis cranialis	0,46±0,14	0,44±0,16	1,37±0,19	1,33±0,25

В процессе оказания травматологической помощи нами были определены три степени атрофии, ограничения движения конечностей в плоскостях и наличия болевого синдрома у животных.

Нами проведена миотонометрия ранее изучаемых мышц (m. triceps brachii, caput laterale; m. extensor digitalis communis; m. biceps femoris; m. tibialis cranialis) у животных с разной степенью атрофии, ограничения движения конечностей в плоскостях и наличия болевого синдрома у животных (Таблица 8).

Согласно развитию степени понижения мышечного тонуса, ограничения движения конечностей и усиления болевого синдрома, препятствующие процессу физиологического восстановления, нами разработан способ нейромышечной реабилитации мелких непродуктивных животных (Патент № 2820160).

Таблица 8 – Тонус мышц собак с разной степенью атрофии, ограничения движения конечностей в плоскостях и наличия болевого синдрома

Исследуемая мышца	Слабая степень (до 10%); (n=10)	Средняя степень (до 25%); (n=10)	Тяжелая степень (до 40%); (n=10)
m. triceps brachii	0,47±0,06	0,39±0,05	0,31±0,04
m. extensor digitalis communis	0,42±0,04	0,35±0,04	0,28±0,03
m. biceps femoris	0,46±0,05	0,38±0,04	0,31±0,03
m. tibialis cranialis	0,41±0,05	0,35±0,04	0,28±0,04

Нейромышечная реабилитация осуществлялась с помощью низкочастотного импульсного переменного тока с диапазоном частот электрических импульсов – 1-1000 Гц в качестве терапии в постоперационном периоде, как ортопедических, так и неврологических заболеваний у мелких непродуктивных животных.

Клинический результат достигали последовательным воздействием низкочастотным импульсным переменным током, с диапазоном частот от 1 до 1000 Гц, на мышечную структуру интересующей конечности и области. Способ осуществляется с использованием прибора для электростимуляции МиоМед 3 в 1 («Шеньдженъ Хэ Чи Кан Технолоджи Ко., Лтд», Китай).

Для воздействия на мышечную структуру один электрод помещают на область двигательной точки мышцы-мишени (в середине мышечного брюшка), второй электрод – в области прикрепления мышцы, причем доза, продолжительность, длительность и кратность подбирается индивидуально согласно степени атрофии и болевого синдрома.

Нами установлено (Таблица 9), что согласно слабой степени атрофии, ограничения в флексии, экстензии, аддукции, абдукции, ротации, супинации и наличия минимального болевого синдрома необходима нейростимуляция одиночными импульсами по 4-8 Гц с продолжительностью 0,3 мс (микросекунды) на протяжении 5 минут от 3 до 5 раз в течении недели, что доводит мышечный тонус до физиологического уровня.

При средней степени атрофии, ограничения в флексии, экстензии, аддукции, абдукции, ротации, супинации и наличия умеренного болевого синдрома необходима нейростимуляция одиночными импульсами по 30-50 Гц с продолжительностью 0,5 мс (микросекунды) на протяжении 10 минут 1-2 раза в неделю, что приводит к восстановлению мышечного тонуса и уменьшению болевого синдрома до слабой степени.

При тяжелой степени атрофии, ограничения в флексии, экстензии, аддукции, абдукции, ротации, супинации и наличия существенного болевого синдрома необходима нейростимуляция одиночными импульсами по 1,5-3,0 Гц с продолжительностью 0,1 мс (микросекунды) до 5 минут 1 раз неделю, что способствует переходу к средней степени атрофии, что дает возможность постепенного увеличения частоты проведения процедуры без усиления болевого синдрома.

*Таблица 9 – Тонус мышц собак с разной степенью атрофии, ограничения движения конечностей и наличия болевого синдрома после проведения курса нейромышечной реабилитации*

Исследуемая мышца	Одиночные импульсы по 4-8 Гц по 0,3 мс (микросекунды) на протяжении 5 минут от 3 до 5 раз в неделю при слабой степени (до 10%); (n=10)	Одиночные импульсы по 30-50 Гц по 0,5 мс (микросекунды) на протяжении 10 минут 1-2 раза в неделю при средней степени (до 25%); (n=10)	Одиночные импульсы по 1,5-30 Гц по 0,1 мс (микросекунды) до 5 минут 1 раз неделю при тяжелой степени (до 40%); (n=10)
m. triceps brachii	0,52±0,05	0,46±0,05	0,38±0,04
m. extensor digitalis communis	0,46±0,05	0,41±0,06	0,34±0,05
m. biceps femoris	0,50±0,04	0,43±0,04	0,37±0,03
m. tibialis cranialis	0,45±0,06	0,39±0,06	0,34±0,05

Стоит отметить определенные клинические признаки при проведении данного способа реабилитации. При низкой дозе, чуть ниже порога чувствительности, необходимо постепенно увеличивать интенсивность стимуляции до момента проявления реакции со стороны животного, после чего немного снизить интенсивность воздействия.

При средней дозе определяется тремор мышечной ткани. Воздействие не должно создавать дискомфорт. Многие животные расслабляются и закрывают глаза, некоторые засыпают во время процедуры.

При высокой дозе наблюдается явное беспокойство животного, что не допустимо и требует снижения воздействия импульсным током.

Очень короткие импульсы в низкочастотном диапазоне продуцируют мышечные сокращения такой интенсивности, которые воспринимаются как приятное воздействие.

Данный способ нейромышечной реабилитации нашел свое применение в практическом ветеринарном здравоохранении ветеринарной клиники DoctorVet.

Анализируя вышеизложенное, следует отметить, что нейромышечная реабилитация осуществляется с помощью низкочастотного импульсного переменного тока с диапазоном частот электрических импульсов – 1-1000 Гц. Частота импульса, длительность, продолжительность и кратность воздействия определяется в соответствии с результатами двигательной реакции, степени атрофии и болевого синдрома.

### 3. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Согласно экспериментальным исследованиям, подтверждены биоинтеграционные, антибактериальные, osteoconductive, osteoinductive и регенераторные свойства разработанного биокомпозита и покрытия для имплантов.

Степень консолидации пациентов напрямую зависит от анатомо-механического результата хирургического лечения животных, однако, на ускорение данных процессов, помимо квалификации ветеринарного специалиста, травматологического инструментария и метода остеосинтеза, оказывают положительное действие разработанных нами остеопластических материалов.

Разработанные материалы не формируют острой и хронической воспалительной реакции как на макро-, так и на микроуровнях, что подтверждено клиническими, гематологическими, биохимическими, рентгенологическими, гистологическими и иммунологическими исследованиями.

Комплексным системным хирургическим лечением нарушений целостности трубчатых костей у животных является:

- применение во время остеосинтеза усовершенствованных травматологических инструментов (Патенты № 2800019, № 2784814, № 2779002);
- использование остеокондуктивных, остеоиндуктивных, антибактериальных, и биоинтеграционных материалов в зоне перелома (Патенты №2805654; №2817049; № 2816808; № 2816809);
- постоперационной нейромышечной реабилитацией (Патент № 2820160).

Полученные положительные результаты позволяют сформулировать нижеследующие положения и дать практические рекомендации ветеринарным специалистам касательно общей патологии, общей и частной хирургии, травматологии, ортопедии, болезней мелких непродуктивных животных.

1. Разработанный биокомпозиционный остеопластический материал (Патент № 2805654) содержит в качестве активнордействующих веществ: гидроксипатит, метилурацил, амоксициллин; вспомогательное вещество – альгинат кальция; растворитель – вода. Ускоряет консолидацию диафизарных переломов, ложных суставов и несращения у пациентов:

- 2,0-5,9 месячного возраста на 23,5%;
- 6-18 месячного возраста на 21,6%;
- 1,5-4,9-летнего возраста на 21,4%;
- 5,0-9,5 – летнего возраста на 29,3%;
- 10-14,9-летнего возраста на 29,8%.

2. Среднесмертельная доза (LD 50) 1,5% биокомпозиционного материала составляет  $3755,56 \pm 159,44$  мг/кг, что относит его к 3-му классу опасности, согласно ГОСТ 12.1.007-76. Индекс суммарного раздражения составляет  $0,414 \pm 0,06$ , что согласно стандарта ГОСТ ISO 10993 - 10—2011 обладает несущественной степенью ответной реакцией кожных покровов. Средний суммарный балл гиперемии конъюнктивы и роговицы равен  $4,3 \pm 0,54$ , отек век составляет  $1,8 \pm 1,23$ , выделение  $3,1 \pm 1,62$ , что определяет слабую степень раздражающего действия на слизистую оболочку разработанного биокомпозиционного материала, при этом не обладающим алергизирующим действием.

Минимальная подавляющая концентрация 1,5% биокомпозиционного материала для: *Staphylococcus arlettae*, *Corynebacterium ammoniagenes*, *Streptococcus ovis*, *Staphylococcus chromogenes*, *Corynebacterium stationis*, *Staphylococcus sciuri*, *Corynebacterium callunae*, *Staphylococcus lentus*, *Staphylococcus aureus*, *Aerococcus viridians*, *Corynebacterium glutamicum* ( $>0,25$  мкг/мл). Высокая чувствительность к: *Staphylococcus gallinarum* (0,5 мкг/мл); *E. coli* (1 мкг/мл); *Proteus mirabilis* (2 мкг/мл); *Bacillus pumilus* (4 мкг/мл), средняя чувствительность для *Enterococcus hirae* (8 мкг/мл) и *Proteus vulgaris* (16 мкг/мл). Наименьшая чувствительность к для *Wohlfahrtiimonas chitiniclastica*, *Acinetobacter indicus*, *Pseudomonas proteolytica*, *Klebsiella pneumoniae* ( $>64$  мкг/мл).

3. Биокомпозиционный остеопластический материал не ингибирует гемо- и эритропоз, так как уровень эритроцитов (RBC) у целевых животных опытной группы до эксперимента являлся  $5,72 \pm 0,5 \times 10^{12}/L$ , по завершению -  $5,67 \pm 0,3 \times 10^{12}/L$ , гемоглобин (HGB) до эксперимента составлял  $139,0 \pm 8,6$  г/л, на момент окончания –  $134,0 \pm 5,6$  г/л, показатель гематокрита (HCT) до эксперимента составлял  $33,3 \pm 2,5\%$ , а по заверению -  $37,2 \pm 2,8\%$ . Биокомпозиционный остеопластический материал не угнетает гепатобилиарную и мочевыделительную функции, о чем свидетельствует активность АЛТ (на третьи  $41,9 \pm 4,0$  Е/л, на пятнадцатые  $46,3 \pm 3,9$  Е/л и на тридцатые сутки  $42,6 \pm 3,8$  Е/л), общего билирубина (на третьи  $6,6 \pm 0,6$  ммоль/л, на пятнадцатые  $6,5 \pm 0,4$  ммоль/л и на тридцатые сутки  $6,6 \pm 0,5$  ммоль/л), креатинина (на третьи  $97,6 \pm 5,6$  ммоль/л, на пятнадцатые  $75,4 \pm 4,6$  ммоль/л и на тридцатые сутки  $79,3 \pm 7,2$  ммоль/л), мочевины (на третьи  $9,3 \pm 0,7$  ммоль/л, на пятнадцатые  $8,2 \pm 0,8$  ммоль/л и на тридцатые сутки  $8,2 \pm 0,5$  ммоль/л).

Рентгенологически, спустя 3,5 недели с момента начала эксперимента у целевых животных отмечается полное сращивание отломков с выраженными периостальными, эндостальными, интермедиарными и минимальными параоссальными реакциями, а спустя 5,0-5,5 недель диагностируется консолидация экспериментальных переломов.

Гистологически, спустя 5,0-5,5 недель определяется новообразованная костная ткань, представленная классическими остеонами с кровенаполненными каналами Гаверса и Фолькмана, концентрически расположенным матриксом со вставочными пластинками и остеоцитами.

4. Уровень цитокина (ФНО- $\alpha$ ) до оперативного вмешательства в опытной группе составлял  $0,87 \pm 0,07$  пкг/мл против  $0,79 \pm 0,06$  пкг/мл в контроле, к 7 суткам после остеосинтеза с использованием 1,5% биокomпозиционного материала регистрировали максимальное повышение на 19,4%, что составило  $1,13 \pm 0,09$  пкг/мл, к 14 суткам стабилизировался ( $1,11 \pm 0,08$  пкг/мл) и к 45 суткам пришел в норму ( $0,95 \pm 0,09$ ). Концентрация фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) до оперативного вмешательства в опытной группе составлял  $9,67 \pm 0,54$  пкг/мл против  $9,58 \pm 0,75$  пкг/мл в контроле, к 30 суткам зарегистрировано максимальное значение в 2,6 раза превышающее контрольное ( $83,82 \pm 7,1$  пкг/мл). Интерлейкин 1 бета (ИЛ-1 $\beta$ ) перед оперативным вмешательством в опытной группе составлял  $1,08 \pm 0,08$  пкг/мл против  $1,06 \pm 0,11$  пкг/мл в контроле, к 30 суткам данный показатель на 23,3% превышал контрольное значение ( $2,15 \pm 0,17$  пкг/мл), а к 60 суткам имел тенденцию к стабилизации ( $1,31 \pm 0,12$  пкг/мл). Интерлейкин 6 (ИЛ-6) перед оперативным вмешательством в опытной группе составлял  $0,57 \pm 0,05$  пкг/мл против  $0,51 \pm 0,04$  пкг/мл в контроле, к 3 суткам после остеосинтеза регистрировали максимальное повышение на 36,8%, что составило  $1,33 \pm 0,11$  пкг/мл, после данный показатель имел постепенную тенденцию к стабилизации и к окончанию опытного периода составлял  $0,75 \pm 0,05$  пкг/мл.

5. Разработанное остеопластическое биокomпозиционное покрытие для имплантов (Патент №2817049) содержит в качестве активнoдействующих веществ: гидроксипатит, метилурацил, амоксициллин; вспомогательное вещество - полилактид; растворитель – хлороформ. Ускоряет консолидацию диафизарных переломов, замедленной консолидации, ложных суставов и несращения у пациентов:

- 2,0-5,9 месячного возраста на 20,4%;
- 6-18 месячного возраста на 22,2%;
- 1,5-4,9-летнего возраста на 21,7%;
- 5,0-9,5 – летнего возраста на 29,3%;
- 10-14,9-летнего возраста на 24,7%.

6. Среднесмертельная доза (LD 50) 3,5% биокomпозиционного остеопластического покрытия для имплантов составляет  $3862,56 \pm 404,27$  мг/кг, что относит его к 3-му классу опасности, согласно ГОСТ 12.1.007-76. Индекс суммарного раздражения составляет  $0,388 \pm 0,1$ , что согласно стандарта ГОСТ ISO 10993 - 10—2011 обладает несущественной степенью ответной реакцией кожных покровов. Средний суммарный балл гиперемии конъюнктивы и роговицы равен  $4,5 \pm 0,57$ , отек век составляет  $2,0 \pm 1,91$ , выделение  $2,9 \pm 2,04$ , что определяет слабую степень раздражающего действия на слизистую оболочку разработанного биокomпозиционного остеопластического покрытия для имплантов, при этом не обладающим алергизирующим действием.

Минимальная подавляющая концентрация 3,5% биокomпозиционного остеопластического покрытия для: *Staphylococcus arlettae*, *Corynebacterium ammoniagenes*, *Streptococcus ovis*, *Staphylococcus chromogenes*, *Corynebacterium stationis*, *Staphylococcus sciuri*, *Corynebacterium callunae*, *Staphylococcus lentus*, *Staphylococcus aureus*, *Aerococcus viridians*, *Corynebacterium glutamicum* ( $>0,25$  мкг/мл). Высокая чувствительность к: *Staphylococcus gallinarum* (0,5 мкг/мл); *E. coli* (1 мкг/мл); *Proteus mirabilis* (2 мкг/мл); *Bacillus pumilus* (4 мкг/мл), средняя чувствительность для *Enterococcus hirae* (8 мкг/мл) и *Proteus vulgaris* (16 мкг/мл). Наименьшая чувствительность к для *Wohlfahrtiimonas chitiniclastica*, *Acinetobacter indicus*, *Pseudomonas proteolytica*, *Klebsiella pneumoniae* ( $>64$  мкг/мл).

7. Биоконпозиционное остеопластическое покрытие для имплантов не угнетает гемо- и эритропоз, так как уровень эритроцитов (RBC) у целевых животных опытной группы до эксперимента являлся  $5,41 \pm 0,4 \times 10^{12}/L$ , по завершению –  $5,69 \pm 0,4 \times 10^{12}/L$ , гемоглобин (HGB) до эксперимента составлял  $140,0 \pm 10,2$  г/л, на момент окончания -  $141,0 \pm 13,4$  г/л, показатель гематокрита (HCT) до эксперимента составлял  $32,8 \pm 3,1\%$ , а по заверению -  $38,3 \pm 2,4\%$ . Биоконпозиционное остеопластическое покрытие для имплантов не угнетает гепатобилиарную и мочевыделительную функции, о чем свидетельствует активность АЛТ (на третьи  $39,1 \pm 2,7$  Е/л, на пятнадцатые  $49,8 \pm 3,6$  Е/л и на тридцатые сутки  $56,3 \pm 4,6$  Е/л), общего билирубина (на третьи  $7,2 \pm 0,4$  ммоль/л, на пятнадцатые  $6,1 \pm 0,5$  ммоль/л и на тридцатые сутки  $7,6 \pm 0,6$  ммоль/л), креатинина (на третьи  $96,2 \pm 9,2$  ммоль/л, на пятнадцатые  $79,2 \pm 7,6$  ммоль/л и на тридцатые сутки  $76,2 \pm 5,6$  ммоль/л), мочевины (на третьи  $8,3 \pm 0,5$  ммоль/л, на пятнадцатые  $8,3 \pm 0,7$  ммоль/л и на тридцатые сутки  $7,9 \pm 0,6$  ммоль/л).

Рентгенологически, спустя 3,0 недели с момента начала эксперимента у целевых животных отмечается полное сцепление отломков с выраженными периостальными, эндостальными, интермедиарными и минимальными параоссальными реакциями, а спустя 4,5-5,0 недель диагностируется консолидация экспериментальных переломов.

Гистологически, спустя 4,5-5,0 недель определяется восстановленная костная ткань, представленная классическими остеонами с кровенаполненными каналами Гаверса и Фолькмана, концентрически расположенным матриксом со вставочными пластинками и остеоцитами.

8. Уровень цитокина (ФНО- $\alpha$ ) до оперативного вмешательства в опытной группе составлял  $0,84 \pm 0,08$  пкг/мл против  $0,80 \pm 0,06$  пкг/мл в контроле, к 14 суткам после остеосинтеза имплантами с 3,5% остеопластическим биоконпозиционным покрытием регистрировали максимальное повышение на 23,9%, что составило  $1,21 \pm 0,11$  пкг/мл, к 30 суткам стабилизировался ( $0,86 \pm 0,07$  пкг/мл). Концентрация фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) до оперативного вмешательства в опытной группе составлял  $10,61 \pm 1,05$  пкг/мл против  $9,68 \pm 0,75$  пкг/мл в контроле, к 30 суткам зарегистрировано максимальное значение в 2,9 раза превышающее контрольное ( $86,74 \pm 6,7$  пкг/мл). Интерлейкин 1 бета (ИЛ-1 $\beta$ ) перед оперативным вмешательством в опытной группе составлял  $1,25 \pm 0,09$  пкг/мл против  $1,18 \pm 0,11$  пкг/мл в контроле, к 30 суткам данный показатель на 33,3% превышал контрольное значение ( $2,34 \pm 0,51$  пкг/мл), а к 60 суткам имел тенденцию к стабилизации ( $1,67 \pm 0,16$  пкг/мл). Интерлейкин 6 (ИЛ-6) перед оперативным вмешательством в опытной группе составлял  $0,60 \pm 0,06$  пкг/мл против  $0,51 \pm 0,04$  пкг/мл в контроле, к 3 суткам после остеосинтеза регистрировали максимальное повышение в 1,75 раза, что составило  $1,21 \pm 0,08$  пкг/мл, после данный показатель имел постепенную тенденцию к стабилизации и к окончанию опытного периода составлял  $0,62 \pm 0,06$  пкг/мл.

9. Разработанный ветеринарный костодержатель (Патент № 2800019) обеспечивает стабильную временную фиксацию костных фрагментов, за счет окончательных губок толщиной 3,0 мм, длиной 30,0 мм и шириной 15,0 мм, с возможностью установки имплантов не ослабляя временной фиксации.

Разработанный хирургический распатор для животных (Патент № 2784814), за счёт первой рабочей части, имеющая ширину 4,5–6,0 мм, длину 25,0–40,0 мм с заточкой 20–25<sup>0</sup>, обеспечивает изолирование надкостницы, хрящевых и фиброзных тканей от костной структуры и твердых тканей, а за счет второй рабочей части, представленной плоско-выгнутым клином в проксимальной части, имеющую ширину 3,0-4,5 мм, в самой дистальной части 0,9-1,5 мм с тупоконечной заточкой, осуществляется отделение и отведение сухожильно-связочного аппарата, а также мягкотканых структур, нервов, сосудов, слизистой.

Разработанный костный ортопедический дистрактор для животных (Патент № 2779002) обеспечивает возможность дозированно измеримого, постепенного и контролируемого растяжения проксимального и дистального фрагмента кости на необходимое расстояние в заданном направлении, с созданием значительной физической нагрузки (более 39 кг/см<sup>2</sup>, что примерно равно 400 кг), для последующего проведения остеосинтеза.

10. Разработанный способ нейромышечной реабилитации мелких непродуктивных животных (Патент № 2820160) стимулирует, с помощью низкочастотного импульсного переменного тока с диапазоном частот от 1 до 1000 Гц, двигательные волокна, вызывающие сокращение и расслабление мышечного каркаса, что способствует повышению периферического кровообращения, контролю острого или хронического болевого синдрома, тем самым предупреждает развитие атрофии мышечного каркаса.

#### **Практические предложения:**

1. Для оптимизации репаративного остеогенеза трубчатых костей мелких непродуктивных животных, вне зависимости от типа анатомического нарушения костной ткани, наличия замедленной консолидации и выбора метода остеосинтеза следует использовать разработанный 1,5% остеопластический биокомпозиционный материал.

2. Для прагматизации репаративного остеогенеза трубчатых костей мелких непродуктивных животных, вне зависимости от типа анатомического нарушения костной ткани, наличия замедленной консолидации и выбора метода остеосинтеза следует использовать импланты с 3,5% разработанным остеопластическим биокомпозиционным покрытием.

3. Для скорейшего проведения анатомической репозиции костных отломков и минимизирования ятрогенного воздействия, в процессе проведения остеосинтеза «свежих» или «застарелых» нарушений, следует использовать костный ортопедический дистрактор.

4. Для скорейшего проведения мобилизации, ревизии и изолирования сухожильно-связочного аппарата, мягкотканых структур, нервов, сосудов, надкостницы, хрящевых и фиброзных тканей от костной структуры, в процессе проведения остеосинтеза «свежих» или «застарелых» нарушений, следует использовать хирургический распатор для животных.

5. Для предоставления надежной временной фиксации поперечных, косых и винтообразных переломов, и возможности проведения дополнительных манипуляций и установки необходимых имплантов, в процессе проведения остеосинтеза «свежих» или «застарелых» нарушений, следует использовать костодержатель ветеринарный.

6. Для восстановления утраченного мышечного объема, контроля болевого синдрома, а также повышения эластичности сухожильно-связочного аппарата, необходимо использовать разработанный способ нейромышечной реабилитации, осуществляющийся с помощью низкочастотного импульсного переменного тока с диапазоном частот от 1 до 1000 Гц.

#### **Рекомендации и перспективы разработки темы**

Последующие исследования, сопряженные с научной тематикой диссертационной работы, могут быть направлены на разработку гидроксиапатитных биокомпозитов и покрытий для имплантов с антимикробными средствами различного спектра действия, оказывающих целенаправленное бактерицидное действие на соответствующего возбудителя септического заболевания, разработку дополнительного травматологического инструментария направленного на разделение краев хирургического разреза или раны, а также дополнительных аппаратов для удерживания отломков костей, разработку аппаратов и экзоскелетов для проведения реабилитационных мероприятий пациентов травматологического и неврологического профиля.

Полученные результаты, по оптимизации репаративного остеогенеза за счет применения разработанного биокомпозита и покрытия для имплантов, могут найти широкое применение в ветеринарной стоматологии и травматологии мелких непродуктивных и других видов животных и птиц.

**СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ АВТОРОМ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ****Статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ**

1. **Артемьев, Д.А.** Консолидация переломов костей собак и кошек / **Д.А. Артемьев, С.В. Козлов, С.О. Лощинин, А.В. Егунова** // Научная жизнь. 2021. Т. 16. Вып. 6. С. 735-742.
2. **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. Т. 16. Вып. 7. С. 896–907.
3. **Артемьев, Д.А.** Динамика клинико-биохимических показателей крови животных при применении спиц с инновационным остеопластическим биокомпозиционным покрытием для восстановления костной ткани / **Д.А. Артемьев, В.С. Клоков, Д.Д. Лешошкина, Д.А. Бугаенко** // Научная жизнь. 2022. Т. 17. Вып. 2. С. 270-281.
4. **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.
5. **Артемьев, Д.А.** Влияние биокомпозиционного 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.
6. **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. Т. 17. Вып. 4. С. 599-610.
7. **Артемьев, Д.А.** Гистологические исследования биопсийного материала костной ткани собак при использовании ускоряющего консолидацию биокомпозиционного материала / **Д.А. Артемьев, С.В. Козлов, И.В. Зирук, В.С. Клоков, Д.А. Бугаенко, А.Д. Ключкина, Я.Е. Ярош** // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2023. №4. (102). С.199-206.
8. **Артемьев, Д.А.** Изменения гематологических показателей при использовании остеопластического биокомпозиционного материала для восстановления костной ткани у животных / **Д.А. Артемьев, В.С. Клоков, Д.А. Бугаенко, А.Д. Ключкина** // Научная жизнь. 2022. Т. 17. Вып. 5. С. 822-831.
9. **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. Т. 17. Вып. 6. С. 1006-1017.
10. **Артемьев, Д.А.** Оценка цитокинового статуса собак при использовании биокомпозиционного материала для ускорения консолидации костной ткани / **Д.А. Артемьев, С.В. Козлов, В.С. Клоков, Д.А. Бугаенко, А.Д. Ключкина** // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2023. №4. (101). С.274-280.
11. **Артемьев, Д.А.** Гистологические исследования биопсийного материала костной ткани животных при использовании остеопластического биокомпозиционного 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.
12. **Артемьев, Д.А.** Гематологическое исследование голубей при применении биокомпозиционных покрытий имплантов для остеосинтеза / **Д.А. Артемьев, С.В. Козлов, Я.Б. Древко, А.Д. Ключкина** // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2023. № 6 (103). С. 271-277.
13. **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.
14. **Артемьев, Д.А.** Клинический случай использования разработанного биокомпозита в ветеринарной травматологии / **Д.А. Артемьев, С.О. Шерепера** // Аграрный научный журнал. 2024. № 10. С. 88-92.

**Патенты**

15. Патент № 2800019 С1 Российская Федерация, МПК А61В 17/56, А61В 17/28. Костодержатель ветеринарный: № 2022112005: заявл. 04.05.2022: опубл. 14.07.2023 / **Д.А. Артемьев**, С.В. Козлов, В.С. Медведев, А.С. Салыпчук; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова". – EDN OAJENF.

16. Патент № 2779002 С1 Российская Федерация, МПК А61D 1/00, А61В 17/66. Костный ортопедический дистрактор для животных: № 2021116724: заявл. 09.06.2021: опубл. 30.08.2022 / **Д.А. Артемьев**, С.В. Козлов, В.С. Клоков; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова". – EDN DAMKUZ.

17. Патент № 2784814 С1 Российская Федерация, МПК А61В 17/00, А61В 17/24, А61В 17/32. Хирургический распатор для животных: № 2022110793: заявл. 21.04.2022: опубл. 29.11.2022 / **Д.А. Артемьев**, Д.А. Бугаенко, В.С. Клоков, С.В. Козлов; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова". – EDN ZUIRUH.

18. Патент № 2805654 С1 Российская Федерация, МПК А61К 33/42, А61К 31/505, А61К 31/7072. Биоконпозиционный остеопластический материал для ускорения консолидации переломов животных: № 2022127854: заявл. 26.10.2022: опубл. 23.10.2023 / **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". – EDN PVRVDL.

19. Патент № 2816808 С1 Российская Федерация, МПК А61В 17/56, А61Р 19/00, А61L 27/00. Способ оптимизации репаративного остеогенеза трубчатых костей животных: № 2023105344: заявл. 07.03.2023: опубл. 05.04.2024 / **Д.А. Артемьев**, С.В. Козлов; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова". – EDN PQFPNE.

20. Патент № 2816809 С1 Российская Федерация, МПК А61В 17/56, А61Р 19/00, А61L 27/00. Способ прагматизации репаративного остеогенеза трубчатых костей животных: № 2023105695: заявл. 10.03.2023: опубл. 05.04.2024 / **Д.А. Артемьев**, С.В. Козлов; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова". – EDN WNVUBB.

21. 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". – EDN PMQWQZ.

22. Патент № 2820160 С1 Российская Федерация, МПК А61D 99/00, А61Н 1/00. Способ нейромышечной реабилитации мелких непродуктивных животных: № 2023112523: заявл. 16.05.2023: опубл. 30.05.2024 / **Д.А. Артемьев**, С.В. Козлов, С.О. Лоцинин, С.О. Шерепера; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова".

**Публикации в других изданиях**

23. **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 — Режим доступа: <http://e-scio.ru/wp-content/uploads/2022/02/Артемьев-Д.-А.-Козлов-С.-В.-Клоков-В.-С.-Бугаенко-Д.-А.pdf>.

24. **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 — Режим доступа: <http://e-scio.ru/wp-content/uploads/2022/02/Артемьев-Д.-А.-Козлов-С.-В.-Клоков-В.-С.-Бугаенко-Д.-А..pdf>.

25. **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 — Режим доступа: <http://e-scio.ru/wp-content/uploads/2022/02/Артемьев-Д.-А.-Козлов-С.-В.-Клоков-В.-С.-Бугаенко-Д.-А...pdf>.

26. **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/wp-content/uploads/2022/04/Артемьев-Д.-А.-Козлов-С.-В.-Клоков-В.-С.-Бугаенко-Д.-А.pdf>.

27. **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.

28. **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.

29. **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.

30. **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. Т. 18. Вып. 2 (128) С.283-296.

31. **Артемьев, Д.А.** Рентгеноморфологические аспекты сращения лучевой кости собак при использовании остеопластического биоконпозиционного материала / **Д.А. Артемьев, С.В. Козлов, В.С. Клоков, Д.А. Бугаенко** // Научная жизнь. 2023. Т. 18. Вып. 3 (129) С. 432-441.

32. **Артемьев, Д.А.** Рентгенологическое исследование костей птиц при остеосинтезе имплантатами с биоконпозиционным покрытием в эксперименте / **Д.А. Артемьев, С.В. Козлов, Я.Б. Древкин, А.Д. Ключкина** // Научная жизнь. 2023. Т. 18. Вып. 4 (130). С. 613–625.

33. **Артемьев, Д.А.** Гистоморфологическое изучение костной структуры птиц при использовании биоконпозиционного покрытия имплантов / **Д.А. Артемьев, И.В. Зирук, Я.Б. Древкин, Я.Е. Ярош** // Научная жизнь. 2023. Т. 18. Вып. 5 (131). С. 795–804.

34. **Артемьев, Д.А.** Воздействие разработанного остеопластического биокомпозиционного материала на регулирование ИЛ-1 и ИЛ-6 у 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. 4-7.

35. **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.

36. **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.

37. **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.

38. **Артемьев, Д.А.** Гематологический анализ гепатобилиарной системы собак при применении разработанного остеопластического биокомпозиционного материала / **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. 21-25.

39. **Артемьев, Д.А.** Гистоморфология костной структуры при применении биокомпозиционного материала для ускорения сращения переломов у 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. 26-33.

40. **Артемьев, Д.А.** Биохимическая оценка ренальной системы собак при применении разработанного биокомпозиционного материала для ускорения сращения костей / **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. 34-38.

41. **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.

42. **Артемьев, Д.А.** Рентгеноморфологическое изучение костной структуры при применении биокомпозиционного материала у 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. 43-47.

43. **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.

44. **Артемьев Д.А.** Результат воздействия разработанного остеопластического биокomпозиционного 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.

45. **Артемьев Д.А.** Нейромышечная реабилитация мелких непродуктивных животных / **Д.А. Артемьев**, С.В. Козлов, 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. 21-28.

46. **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.

47. **Артемьев Д.А.** Влияние разработанного биокomпозиционного материала на цитокиновый профиль собак (ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО- $\alpha$ , VEGF) / **Д.А. Артемьев**, С.В. Козлов, 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. 7-14.

48. **Артемьев Д.А.** Рентгенография костной ткани лабораторных животных при применении разработанного остеопластического биокomпозиционного материала / **Д.А. Артемьев**, С.В. Козлов, 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. 44-50.

49. **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.

50. **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.

51. **Артемьев Д.А.** Эффективность низкочастотного импульсного переменного тока в реабилитации мелких непродуктивных животных / **Д.А. Артемьев**, А.В. Егунова, С.В. Козлов, А.Ю. Алиев, С.О. Шерепера // Прикаспийский вестник ветеринарии. 2024. № 3 (8). С. 79-85.