

DOI: <https://doi.org/10.17816/psaic1566>

Антибактериальная активность и биосовместимость аугментов из никелида титана с добавлением наночастиц серебра для костной пластики

С.А. Борисов¹, И.И. Гордиенко¹, Н.А. Цап¹, Г.А. Байгонакова², Е.С. Марченко², В.А. Ларииков²¹ Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Россия;² Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия

АННОТАЦИЯ

Актуальность. Актуальность исследования обусловлена сохраняющимся числом инфекционных осложнений при аугментации костной ткани у детей и взрослых. В настоящее время одними из самых предпочтительных материалов для использования в костной пластике являются пористые сплавы на основе никелида титана (TiNi). Несмотря на очевидные преимущества пористых никелид-титановых сплавов с точки зрения биохимической и биомеханической совместимости с организмом, продолжают исследования антибактериальной активности сплава с целью противодействия развитию инфекций на границе имплант – биологическая ткань.

Цель — экспериментальное исследование биосовместимой антибактериальной поверхности у пористых сплавов никелида титана с добавлением наночастиц серебра.

Материалы и методы. Сплавы никелида титана пористостью 62 % были получены методом самораспространяющегося высокотемпературного синтеза из порошков никеля, титана и нанопорошка серебра с концентрацией 0,2 ат.% Ag, 0,5 ат.% Ag и 1,0 ат.% Ag. Эксперимент проводили на 9 половозрелых самках белых лабораторных крыс. Крысы были разделены на 3 группы по 3 особи, всем животным был имплантирован никелид титана с добавками серебра в виде пористых гранул. Первая группа — контрольная, вторая — с содержанием 0,2 ат.% Ag, третья — 0,5 ат.% Ag. Для определения бактерицидной активности использовали стандартный метод инкубации *Staphylococcus epidermidis* в жидком бульоне в присутствии изучаемых образцов с последующим высевом на твердые среды и подсчетом колоний.

Результаты. Антибактериальное действие образцов в отношении бактерий *St. epidermidis* постепенно усиливалось с увеличением концентрации серебра. Значимость различий эксперимента и контроля подтверждена критерием Стьюдента ($p < 0,005$), тогда как образец, не содержащий наночастиц серебра, и контроль значимо не различались. Это свидетельствует о том, что данные сплавы обладают биоактивными свойствами за счет содержания наночастиц серебра. Сплав с концентрацией серебра 0,5 ат.% показал наилучшую антибактериальную способность в отношении *St. epidermidis*. При проведении клинической оценки результатов экспериментального исследования отмечалось отсутствие гнойно-воспалительных осложнений у всех животных. На 75-е сутки животным проведена компьютерная томография, на которой отмечена хорошая заполняемость костного дефекта, отсутствие дистрофического эффекта в области контакта кости и мягких тканей с материалом.

Заключение. Установлено, что с повышением концентрации наночастиц серебра до 0,5 ат.% увеличивается антибактериальная активность и цитосовместимость имплантата. Клиническая экспериментальная оценка на лабораторных крысах всех групп животных показала, что остеоинтеграция сплавов с 0,5 ат.% Ag начинается сразу после имплантации и завершается раньше на 2 нед. по сравнению с остальными группами. Полученные данные указывают на перспективность дальнейших исследований этого вида аугментов по применению в различных областях травматологии и ортопедии.

Ключевые слова: костные аугменты; никелид титана (TiNi); наночастицы серебра; костная пластика; лабораторные животные; эксперимент.

Как цитировать

Борисов С.А., Гордиенко И.И., Цап Н.А., Байгонакова Г.А., Марченко Е.С., Ларииков В.А. Антибактериальная активность и биосовместимость аугментов из никелида титана с добавлением наночастиц серебра для костной пластики // Российский вестник детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии. 2024. Т. 14, № 1. С. 21–31. DOI: <https://doi.org/10.17816/psaic1566>

DOI: <https://doi.org/10.17816/psaic1566>

Antibacterial activity and biocompatibility of titanium nickelide augments with the addition of silver nanoparticles for bone grafting: an experimental study

Semyon A. Borisov¹, Ivan I. Gordienko¹, Natalya A. Tsap¹,
Gulsharat A. Baigonakova², Ekaterina S. Marchenko², Victor A. Larikov²

¹ Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russia;

² National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia

ABSTRACT

BACKGROUND: The relevance of this study was supported by the increasing number of infectious complications of bone augmentation in children and adults. Currently, porous titanium nickelide alloys are among the most preferred materials used in bone plasty. Despite the observable advantages of porous nickelide titanium alloys in terms of biochemical and biomechanical compatibility with the body, research on the antibacterial activity of alloys is ongoing to counter the development of infections at the implant–biological tissue border.

AIM: To perform an experimental study of the biocompatible antibacterial surface in porous titanium nickelide alloys with the addition of silver nanoparticles.

MATERIALS AND METHODS: Titanium nickelide alloys with 62% porosity were obtained using the self-propagating high-temperature synthesis method from nickel, titanium, and nanosilver powders at concentrations of 0.2 at.% Ag, 0.5 at.% Ag, and 1.0 at.% Ag, respectively. The experiment was conducted on nine sexually mature female white laboratory rats. They were divided into three groups, with three rats each. All animals were implanted with titanium nickelide along with porous granules of silver additives. The first group was the control, the second received 0.2 at.% silver, and the third received 0.5% silver. The standard method of incubating *Staphylococcus epidermidis* in liquid broth in the presence of the studied images was used to determine bactericidal activity, followed by seeding on solid media and counting colonies.

RESULTS: The antibacterial effect of the samples on *S. epidermidis* gradually increased with increasing silver concentration. The significance of the differences between the experiment and control was confirmed by Student's criterion $p < 0.005$, whereas the sample without silver nanoparticles and the control do not differ significantly. Thus, these alloys may have bioactive properties because they contain silver nanoparticles. An alloy with a silver concentration of 0.5 at.% Ag showed the best antibacterial activity to *S. epidermidis*. In the clinical evaluation of the results of the experimental study, purulent inflammatory complications were not observed in all animals at all times. On day 75, the animals underwent computed tomography, which showed good occupancy of the bone defect and absence of a dystrophic effect on the area where the bone and soft tissue are in contact with the material.

CONCLUSIONS: If the concentration of silver nanoparticles is increased up to 0.5 at.%, the antibacterial activity and cytocompatibility of the implant also increase. Clinical experimental evaluation in all groups of animals showed that osteointegration of alloys with 0.5 at.% Ag begins immediately after implantation and is completed 2 weeks earlier than that in the remaining groups.

Keywords: bone augments; titanium nickelide (TiNi); silver nanoparticles; bone grafting; laboratory animals; experiment.

To cite this article

Borisov SA, Gordienko II, Tsap NA, Baigonakova GA, Marchenko ES, Larikov VA. Antibacterial activity and biocompatibility of titanium nickelide augments with the addition of silver nanoparticles for bone grafting: an experimental study. *Russian Journal of Pediatric Surgery, Anesthesia and Intensive Care*. 2024;14(1):21–31. DOI: <https://doi.org/10.17816/psaic1566>

Received: 18.10.2023

Accepted: 16.02.2024

Published: 28.03.2024

DOI: <https://doi.org/10.17816/psaic1566>

用于骨移植且添加有纳米银粒子的钛镍化物的抗菌活性和生物相容性实验研究

Semyon A. Borisov¹, Ivan I. Gordienko¹, Natalya A. Tsap¹,
Gulsharat A. Baigonakova², Ekaterina S. Marchenko², Victor A. Larikov²

¹ Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russia;

² National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia

摘要

现实意义。本研究之所以具有现实意义,是因为在儿童和成人的骨组织增强手术中,感染性并发症的数量一直居高不下。目前,多孔镍化钛(TiNi)合金是用于骨移植的首选材料之一。尽管多孔镍钛合金在与人体的生物化学和生物力学相容性方面具有明显的优势,但有关该合金抗菌活性的研究仍在继续,以对抗植入物-生物组织界面感染的发生。

本研究旨在通过实验对添加纳米银粒子的多孔钛镍合金的生物相容性抗菌表面进行研究。

材料与amp;方法。采用自蔓延高温合成法,利用镍、钛粉末和纳米银粉末(浓度分别为0.2原子%银、0.5原子%银和1.0原子%银)制备了孔隙率为62%的钛镍合金。实验在9只性成熟的雌性白色实验鼠上进行。大鼠被分为3组,每组3只,所有动物都被植入多孔颗粒状的含银添加剂的镍化钛。第一组为对照组,第二组为0.2原子%银,第三组为0.5原子%银。为测定其杀菌活性,采用了标准方法,即在液体肉汤中培养表皮葡萄球菌,同时加入所研究的样品,然后在固体培养基上接种并对菌落进行计数。

结果。随着银浓度的增加,样本对表皮葡萄球菌的抗菌效果逐渐增强。实验与对照之间的差异经学生检验($P < 0.005$)证实具有显著性,而不含纳米银的样本与对照之间没有显著差异。这表明这些合金因含有纳米银粒子而具有生物活性特性。银浓度为0.5原子%的合金对表皮葡萄球菌的抗菌能力最强。在对实验结果进行临床评估时,发现所有动物均未出现化脓性炎症并发症。第75天,动物接受了计算机断层扫描,结果显示骨缺损填充良好,骨和软组织与材料接触区域无退行性影响。

结论。研究发现,当纳米银粒子的浓度增加到0.5原子%时,植入物的抗菌活性和细胞相容性都有所提高。在实验室大鼠身上进行的各组动物临床实验评估表明,含0.5原子%银的合金在植入后立即开始骨整合,与其他组相比,提前2周完成骨整合。所获得的数据表明,在创伤学和矫形外科的各个领域中应用这种类型的增强剂具有进一步研究的前景。

关键词: 骨增强剂; 镍化钛(TiNi); 纳米银粒子; 骨移植; 实验动物; 实验。

引用本文

Borisov SA, Gordienko II, Tsap NA, Baigonakova GA, Marchenko ES, Larikov VA. 用于骨移植且添加有纳米银粒子的钛镍化物的抗菌活性和生物相容性实验研究. *Russian Journal of Pediatric Surgery, Anesthesia and Intensive Care*. 2024;14(1):21–31. DOI: <https://doi.org/10.17816/psaic1566>

收到: 18.10.2023

接受: 16.02.2024

发布日期: 28.03.2024

АКТУАЛЬНОСТЬ

На современном этапе развития травматологии и ортопедии не решена проблема идеального импланта для замещения костной ткани. Аугменты могут быть востребованы при замещении костных дефектов во время оперативного этапа лечения злокачественных и доброкачественных новообразований костей, импрессионных переломов, а также во время эндопротезирования суставов. Одним из драматичных, хотя, и нечасто манифестирующих осложнений оперативных вмешательств являются гнойно-воспалительные процессы в перифокальной, по отношению к импланту, зоне. Периимплантная инфекция считается одним из наиболее тяжелых осложнений, требующих пристального внимания, больших экономических затрат, продолжительной госпитализации и часто приводящих к стойкой инвалидизации пациентов [1, 2]. Гнойные осложнения снижают долю положительных результатов оперативного лечения до 11 % и могут приводить к летальному исходу. Особенно данный вопрос актуален в детской онкотравматологии и ортопедии, так как дети со злокачественными новообразованиями очень восприимчивы к бактериальным, грибковым и вирусным инфекциям вследствие интенсивной химиотерапии, нарушения в работе иммунной системы, изменений в естественных барьерах организма или наличия центральных венозных катетеров [3]. По данным J. Lake и O. Gordon [4], до 10 % всех педиатрических операций на позвоночнике осложняются периимплантной инфекцией, лечение которой в ранние сроки (до 90 сут) требует удаления имплантов и пролонгированной антибактериальной терапии, что отрицательно сказывается на непосредственных результатах лечения [4].

В настоящее время одними из самых предпочтительных материалов для использования в костной пластике являются пористые сплавы на основе никелида титана (TiNi). Несмотря на то что пористые TiNi-сплавы уже много лет известны, актуальность их использования в области медицинского материаловедения сохраняется благодаря их фундаментальным свойствам, таким как механическая и биологическая совместимость, повышенная износостойкость и коррозионная стойкость в биологической среде, большая обратимая деформация [5–7]. Данные сплавы постоянно претерпевают различные модификации с точки зрения изменения состава, модификации поверхности и воздействия термомеханической обработки [8, 9].

Пористость материала может быть подобрана с целью механического соответствия с тканью и прорастания принимающей (прилегающей) биологической ткани в поры, что способствует формированию и ремоделированию кости. Защитный поверхностный слой, самопроизвольно образующийся на поверхности пористых TiNi-сплавов в процессе получения методом самораспространяющегося высокотемпературного синтеза (СВС), повышает его биологическую совместимость и коррозионную стойкость

[10, 11]. Морфология пористо-проницаемой структуры TiNi подобна структуре костных тканей, а прочный и сверхэластичный каркас сохраняют опорную функцию для врастания костной ткани и позволяет длительно выдерживать знакопеременные физиологические нагрузки в организме.

Несмотря на очевидные преимущества пористых TiNi-сплавов с точки зрения биохимической и биомеханической совместимости с организмом, существует еще одно важное направление исследований — это повышение антибактериальной активности с целью противодействия развитию инфекций на границе имплант – биологическая ткань [12–14]. Адгезия бактерий к поверхности биоматериалов является важным этапом в развитии инфекционных осложнений, ведущих к разрушению костной ткани и отторжению импланта.

Среди благородных металлов выделяют серебро (Ag), которое проявляет бактерицидную активность в отношении широкого круга микроорганизмов. Серебро рассматривается во многих различных формах, включая легирование, ионную имплантацию и формирование покрытий на основе металлического Ag [15–18]. За рубежом проводились исследования по механизму действия серебра в виде наночастиц (НЧ-Ag) [12, 19–22].

Цель — экспериментальное исследование биосовместимой антибактериальной поверхности у пористых сплавов TiNi с добавлением НЧ-Ag.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучение антибактериальных свойств и биосовместимости TiNi-имплантов с добавлением НЧ-Ag проводилось путем неослепленного экспериментального рандомизированного контролируемого исследования, выполняемого на протяжении 20 нед. Техническая часть исследования проведена в лаборатории сверхэластичных биоинтерфейсов Национального исследовательского Томского государственного университета. Сплавы TiNi пористостью 62 % были получены методом СВС в постоянном режиме послыонного горения в атмосфере аргона из порошков никеля марки ПНК ОТ-4, титана марки ПТОМ-2 и нанопорошка серебра со средним размером частиц 8 нм с концентрацией 0,2 ат.%, 0,5 ат.% и 1,0 ат.%.

Для определения бактерицидной активности был использован стандартный метод инкубации бактерий в жидком бульоне в присутствии изучаемых образцов с последующим высевом на твердые среды и подсчетом колоний. Суточная культура *Staphylococcus epidermidis* была приготовлена путем переноса 10 мкл чистой культуры микроорганизмов со скошенного агара в питательный бульон (400 мл) с последующей инкубацией 24 ч при температуре 25 °С. Спустя сутки был произведен посев 50 мкл суточной культуры на твердую питательную среду для определения численности микроорганизмов в 1 мл культуры. Опытные образцы сплавов СВС TiNi инкубировали на питательном

бульоне, содержащем микробную взвесь *S. epidermidis* в течение 72 ч при 25 °С. По 100 мкл цельной взвеси микроорганизмов, в разведении 10⁻⁶ высевали на чашки с плотной питательной средой с последующей инкубацией 72 ч при 25 °С и подсчетом колониеобразующих единиц (КОЕ). В контроле к бульону добавляли 100 мкл 0,9 % раствора натрия хлорида. Эксперимент проводили в трех технических повторностях.

Для статистической обработки использовали программу Microsoft Office Excel 2013. Принимая во внимание тот факт, что в расчет брали средние значения двух генеральных совокупностей, значимость различий между значениями в группах оценивали с помощью критерия Стьюдента (*t*-тест).

Для исследования цитосовместимости были использованы образцы TiNi в виде пористых пластин размерами 2 × 10 × 10 мм с концентрацией наночастиц 0,2 ат.% Ag, 0,5 ат.% Ag. Перед исследованием образцы стерилизовали при 180 °С 60 мин в сухожаровом шкафу.

При исследовании цитосовместимости применяли стандартную линию клеток 3Т3 — эмбриональные фибробласты. Клетки 3Т3 культивировали в CO₂-инкубаторе в течение 72 ч в стандартных условиях при температуре 37 °С, 5 % CO₂ и увлажненной атмосфере. Полная питательная среда состояла из DMEM/F12 (НПП «ПанЭко», Россия) с добавлением 10 % фетальной бычьей сыворотки (НПП «ПанЭко», Россия), 40 мкг/мл гентамицина и 250 мг/л глутамина.

Для визуализации клеток использовали сканирующий электронный микроскоп TermoFisheT Axia (США). Образцы промывали фосфатно-солевым буфером (PBS) и фиксировали 2,5 % раствором глутарового альдегида в течение 1 ч. Затем его трижды промывали PBS в течение 15 мин и фиксировали в 1 % растворе четырехоксида осмия (Sigma) в течение 1 ч и еще раз трижды промывали PBS в течение 15 мин. Затем обезвоживали последовательным изменением концентрации этанола (30, 50, 70, 90 и 100 %) в течение 15 мин в каждом растворе. Образцы высушивали. Оценивали плотность клеток в образце, а также количество живых, мертвых и апоптотических клеток в поле зрения (масштаб 100 мкм).

Экспериментальное исследование проведено на базе вивария Уральского государственного медицинского университета (УГМУ) в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» и принципами, изложенными в конвенции по защите позвоночных животных, используемых для эксперимента и других целей (Страсбург, Франция, 1986). Экспериментальные исследования, направленные на изучение инновационного сплава TiNi одобрены локальным этическим комитетом УГМУ, выписка из протокола № 6 от 17.06.2022. Все животные содержались в соответствии с санитарными требованиями № 1045-73 от 06.04.1973.

Эксперимент проводили на 9 половозрелых самках белых лабораторных крыс, весом 400–600 г. Крысы

были разделены на 3 группы по 3 особи, всем животным был имплантирован TiNi с добавками серебра в виде пористых гранул. Гранулы были получены механической дезинтеграцией пористых слитков. Первая группа была контрольная, вторая — с содержанием 0,2 ат.% Ag, третья — с 0,5 ат.% Ag. На 75-е сутки после имплантации животным проводили компьютерную томографию (КТ) для анализа интегративных свойств. Оценивали плотность трабекулярной и кортикальной кости в периимплантной зоне, а также наличие деструктивных изменений в кости и мягких тканях, контактирующих с имплантом.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Антибактериальные свойства и исследование цитосовместимости

St. epidermidis был выбран в качестве бактерии в антимикробном эксперименте. Показатели антибактериальной активности образцов с разным содержанием серебра представлены на рис. 1. Антибактериальное действие образцов в отношении бактерий *St. epidermidis* постепенно увеличивались с увеличением концентрации серебра. Так, количество КОЕ в группе TiNi составило 150, при добавлении НЧ-Ag 0,2 ат.% — 125, а при увеличении концентрации (НЧ-Ag) до 0,5 ат.%, количество КОЕ уменьшилось до 108. Значимость различий эксперимента и контроля подтверждена критерием Стьюдента ($p < 0,005$), тогда как образец, не содержащий НЧ-Ag, и контроль значительно не различаются. Таким образом, можно говорить о том, что данные сплавы обладают биоактивными свойствами за счет содержания НЧ-Ag. Сплав с концентрацией серебра 0,5 ат.% Ag показал наилучшую антибактериальную способность в отношении *St. epidermidis*.

Было проведено исследование цитосовместимости пористых образцов TiNi, с разным содержанием серебра

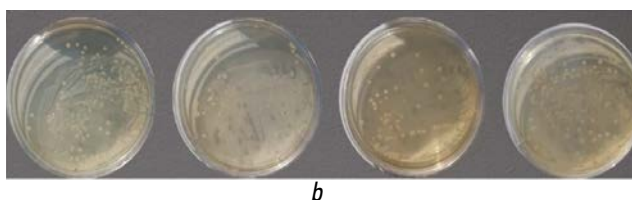
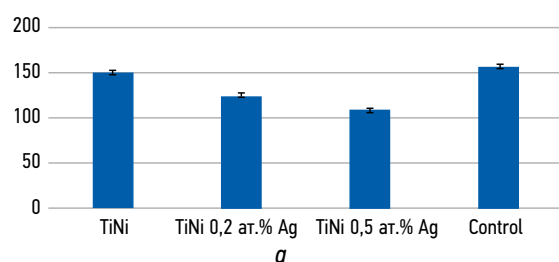


Рис. 1. Антибактериальная активность в отношении *St. epidermidis*: *a* — по вертикали значение, выраженное в КОЕ; *b* — примеры высевов на твердый агар
Fig. 1. Antibacterial activity against *S. epidermidis*: *a*, vertical value expressed in CFU; *b*, examples of inoculations on solid agar

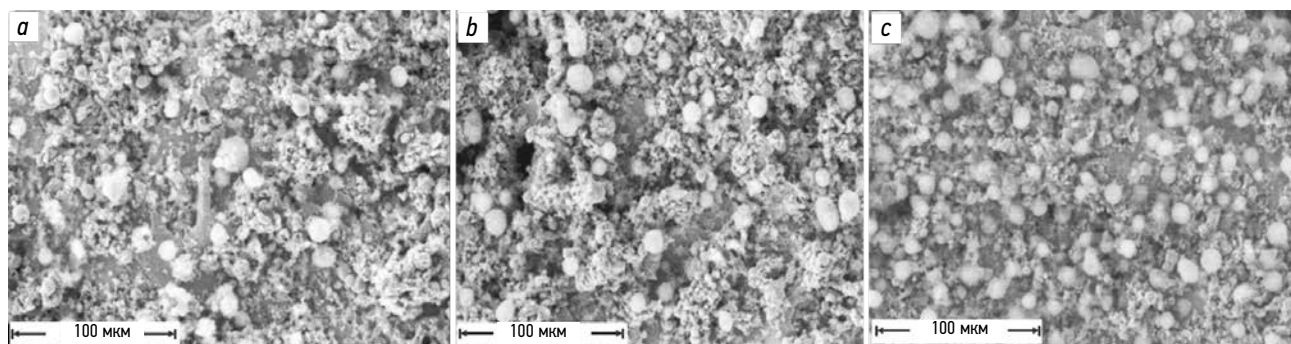


Рис. 2. Растровое изображение поверхности после культивирования образцов пористых сплавов для: *a* — TiNi; *b* — TiNi 0,2 ат.% Ag; *c* — TiNi 0,5 ат.% Ag

Fig. 2. Raster image of the surface after cultivation of samples of porous alloys: *a* — TiNi; *b* — TiNi + 0.2 at.% Ag; *c* — TiNi + 0.5 at.% Ag

с визуализацией клеток на растровом электронном микроскопе. Наблюдается разная плотность клеточных культур на поверхности исследуемых сплавов (рис. 2). Следует отметить, что добавка 0,5 ат.% Ag приводит к уменьшению количества клеток на поверхности пористого сплава TiNi, в то время как большее количество клеток обнаружено на сплаве с 0,2 ат.% Ag.

Согласно данным эксперимента количество живых клеток значительно отличается в образцах и в контроле (рис. 3). Количество клеток, вошедших в апоптоз, не отличается значительно в образцах, но значительно отлично от контроля. Мертвых клеток равное количество во всех группах. Во всех трех группах живых клеток значительно больше, чем мертвых и апоптоических ($p = 0,05$).

Таким образом, все три сплава являются цитосовместимыми, содержание Ag увеличивает количество клеток в апоптозе, однако мертвых клеток во всех образцах одинаково низкое количество, что может говорить об умеренном цитотоксическом действии. Тем не менее анализ монослоя и морфологии клеток показал, что поверхность сплава покрывается плотным монослоем, пористый материал позволяет клеткам развить внеклеточный матрикс в отличие от условий на плоской поверхности,

что повторяет условия роста в клеточном окружении в тканях организма. Клетки имеют неправильную форму, разветвленные подии и погружены в межклеточный матрикс, вакуолизованные структуры характерны для клеток, вступивших в апоптоз, остальные имеют нормальную морфологию. При анализе цитосовместимости все сплавы сохраняли хорошую биосовместимость и не обнаруживали клеточной токсичности в отношении клеток 3T3 — эмбриональных фибробластов.

Экспериментальное исследование на лабораторных животных

Хирургическое лечение лабораторных крыс проводили в стерильных условиях под общей анестезией. Проведение наркоза осуществляли путем внутримышечной инъекции тилетамина гидрохлорида 250 мг и золазепама гидрохлорида 250 мг из расчета 10 мг/кг массы. После подготовки операционного поля, удаления шерсти и обработки растворами антисептика, производили операционный доступ путем разреза кожи до 2 см по наружной поверхности правого бедра. Тупым и острым путем была выделена бедренная кость, и при помощи гравера

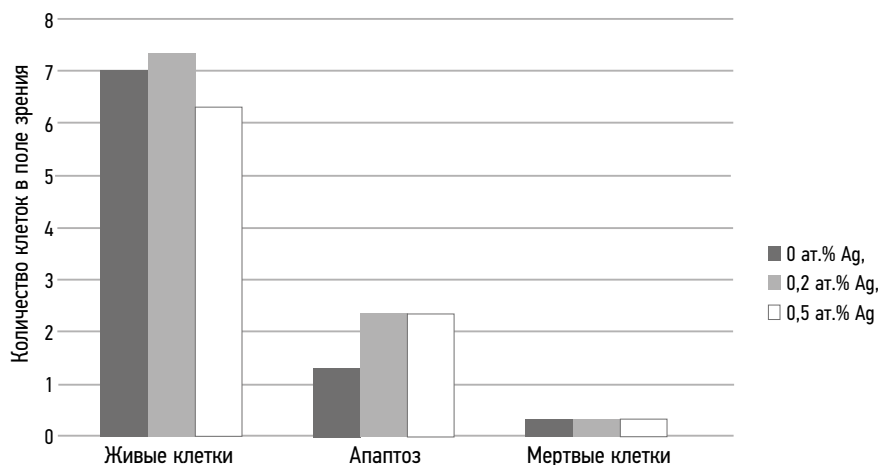


Рис. 3. Количественный анализ жизнеспособности клеток на поверхности образцов пористых сплавов TiNi

Fig. 3. Quantitative analysis of cell viability on the surface of samples of porous TiNi alloys

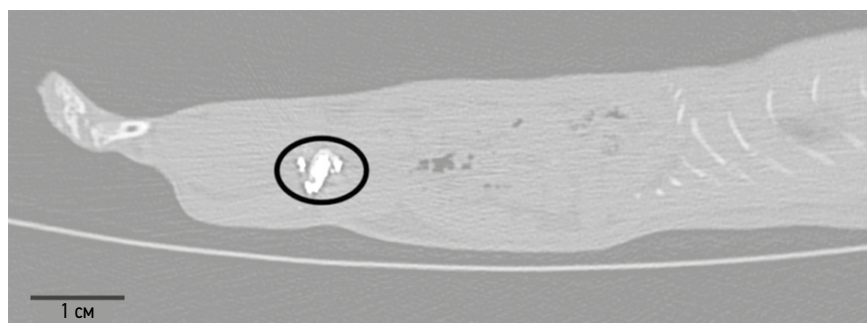


Рис. 4. Компьютерная томография, сагиттальный срез лабораторной крысы. Выделен материал, установленный в костномозговой канал бедренной кости, 75-е сутки от момента имплантации

Fig. 4. Computed tomography. Sagittal scan of a laboratory rat. Selected material installed in the medullary canal of the femur 75 days from implantation

со стерильным булавовидным наконечником выполнено тrefинационное отверстие в проксимальной метадиафизарной области бедренной кости размерами 0,3 × 0,3 см. На данном этапе получена модель полостного образования трубчатой кости. Далее при помощи ложки Фолькмана имплантировали мелкодисперсный порошок TiNi в образованную костную полость в зависимости от группы. Материал плотно утрамбовали в кости, однако часть материала попала в мягкие ткани около кости, что является допустимым. Завершали операцию послойными швами раны и обработкой бриллиантовой зеленью области основного доступа. Послеоперационный период протекал без особенностей, для обезболивания применяли кетопрофен 2,5 % из расчета 2,5 мг/кг массы. При использовании сплавов с концентрацией 0,5 ат.% Ag процесс заживления протекал быстрее. На 75-е сутки все животные были выведены из эксперимента путем передозировки наркотического препарата с последующим забором бедренных костей для дальнейшего гистологического исследования границы кость – имплант и электронной микроскопии.



Рис. 5. Компьютерная томография, 3D-изображение лабораторной крысы. Выделено место имплантации в кость и окружающие мягкие ткани. 75-е сутки после имплантации

Fig. 5. Computed tomography. Three-dimensional image of a laboratory rat. The implantation site in the bone and surrounding soft tissues is highlighted; image was taken 75 days after implantation

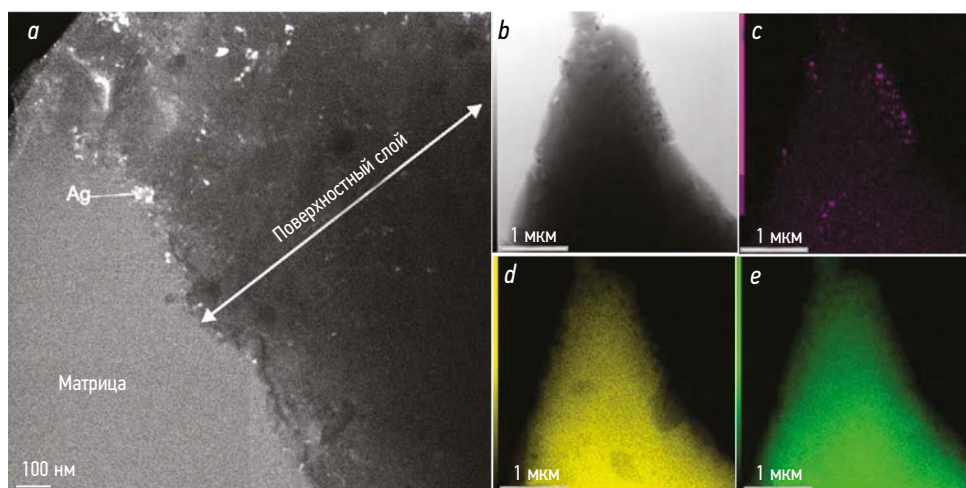


Рис. 6. Распределение Ag в образце TiNi + 0,5 ат.% Ag: *a* — просвечивающая электронная микроскопия и электронная микродифракция Ag; *b–e* — STEM-EDS-элементное картирование*. *STEM (Scanning transmission electron microscopy) — сканирующая трансмиссионная электронная микроскопия; EDS (Energy dispersive spectroscopy) — энергодисперсионная спектроскопия

Fig. 6. Distribution of silver in a TiNi + 0.5 at.% Ag sample: *a* — TEM image and electron microdiffraction pattern of Ag; *b–e* — STEM-EDS elemental mapping*. *STEM — Scanning transmission electron microscopy; EDS — Energy dispersive spectroscopy

При проведении клинической оценки гнойно-воспалительных осложнений у животных на всех сроках эксперимента не отмечалось. Перед выведением животных при клиническом осмотре отсутствовали признаки воспаления в зоне имплантации материала, пальпация безболезненная, местная температура не повышена, передвижение животных в клетке не затруднено.

На 75-е сутки животным проведена КТ, на которой отмечена хорошая заполняемость костного дефекта, отсутствие дистрофического процесса в области контакта кости и мягких тканей с материалом (рис. 4, 5). Плотность периимплантной трабекулярной и кортикальной кости в единицах Хаундсфилда, не отличались в группах с добавлением НЧ-Аг и без таковых.

Для понимания механизмов антибактериальной активности, улучшенной цитосовместимости и приживаемости были проведены электронно-микроскопические исследования поверхности пористых сплавов с 0,5 ат.% Аг (рис. 6).

По результатам просвечивающей электронной микроскопии образцов TiNi с 0,5 ат.% Аг в геометрии cross-section серебро обнаружено в виде наночастиц размером до 10 нм в равномерно распределенных по всему поверхностному слою Ti_4Ni_2O (рис. 6). Наличие НЧ-Аг и обеспечило антибактериальный эффект за счет стандартного механизма, описанного в ряде работ по выходу ионов чистого серебра с поверхности в прилежащие жидкости.

ОБСУЖДЕНИЕ

Для образования губчатой ткани в нашем исследовании было необходимо от 4 до 12 нед., что соответствует данным литературы [7]. При этом наличие послеоперационных инфекционных осложнений не позволяет новообразованной костной ткани своевременно заполнять образовавшиеся пространства и увеличивает срок реабилитации [3]. В нашем исследовании КТ-контроль всех групп животных показал, что остеоинтеграция сплавов с 0,5 ат.% Аг, как сплавом с наиболее выраженным бактерицидным эффектом, начинается сразу после имплантации и завершается раньше на 2 нед. по сравнению с контрольной группой.

В экспериментальных работах [23–25] композитные поверхностные пленки TiNi, легированные серебром (3–10 ат.%), повышают механическую прочность, биосовместимость и коррозионную стойкость имплантов. Однако при концентрации серебра более 5 ат.% антибактериальные свойства сплава ухудшаются. Поэтому особый интерес представляет легирование более низкой концентрацией серебра. Антибактериальную активность покрытия на подложке TiNi исследовали в диапазоне 0,2–0,4 вес.% Аг [26]. Покрытие содержащее $\geq 0,3$ вес.% Аг показало отличную антибактериальную активность. При концентрации 0,2 вес.% Аг антибактериальный эффект проявлялся слабо. Помимо концентрации важен также и размер частиц серебра.

Оптимальные характеристики антибактериальной активности, биосовместимости и коррозионной стойкости достигнуты для размера частиц серебра 20–30 нм [27]. НЧ-Аг индуцируют сильную бактерицидную активность против проблемных патогенов в остеокластах человека. Важно учитывать, чтобы НЧ-Аг в антибактериальных концентрациях не допустили цитотоксического эффекта на клетки [28]. Было продемонстрировано, что НЧ-Аг обеспечивают высокую противомикробную эффективность при низкой цитотоксичности и вызывают клеточный стресс при более высоких концентрациях [29]. По этой причине должен быть баланс между антибактериальными свойствами и возможными рисками для клетки.

Наноструктурное серебро и равномерное распределение обеспечивают однородный антибактериальный эффект, с одной стороны, за счет низкой растворимости серебра в TiNi, а с другой — поверхностный слой Ti_4Ni_2O на пористых сплавах TiNi, полученных методом СВС является очень активным, он как геттер адсорбирует на себе легкие примеси. Поэтому, как отмечено в ряде работ, механизм действия серебра на микробную клетку достигается поглощением клеточной оболочкой микроба ионов серебра, в результате чего его клетка остается жизнеспособной, но при этом нарушается деление и достигается бактериостатический эффект [11, 12, 22–24]. Полученные данные хорошо согласуются с результатами цитотоксичности и данными других авторов. В современной литературе сообщается об антибактериальных и противовирусных эффектах наночастиц и различных соединений серебра. Токсикологические исследования данного материала в мировой литературе показали безопасность малых концентраций НЧ-Аг для человека и окружающей среды [15–20].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, биосовместимость и антибактериальный эффект поверхности у пористых сплавов TiNi с НЧ-Аг подтверждена экспериментально в условиях *in vitro* и *in vivo*. Установлено, что с увеличением концентрации НЧ-Аг до 0,5 ат.% увеличивается антибактериальная активность. Пористый TiNi-сплав с 0,5 ат.% Аг оказался наиболее антибактериально эффективным и цитосовместимым. Клиническая экспериментальная оценка на лабораторных крысах всех групп показала, что остеоинтеграция сплавов с 0,5 ат.% Аг начинается сразу после имплантации и завершается раньше на 2 нед. по сравнению с остальными группами. Обнаруженный положительный эффект связан с равномерной кристаллизацией частицы серебра в нанокристаллическом состоянии в поверхностном слое Ti_4Ni_2O . Полученные данные указывают на перспективность дальнейших исследований этого вида аугментов по применению в различных областях травматологии и ортопедии.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с проведенным исследованием и публикацией настоящей статьи. Личный вклад каждого автора: И.И. Гордиенко — разработка дизайна исследования, проведение оперативных вмешательств на лабораторных животных; С.А. Борисов — проведение оперативных вмешательств на лабораторных животных, оценка морфологических результатов, обзор литературы, сбор и анализ литературных источников, анализ КТ-сканов, написание текста и редактирование статьи; Г.А. Байгонакова — обзор литературы, сбор и анализ литературных источников, статистическая обработка данных, подготовка и написание текста статьи; Е.С. Марченко — разработка дизайна исследования, изготовление TiNi-имплантов, сбор и анализ литературных источников, подготовка и написание текста статьи; В.А. Лариков — изготовление TiNi-имплантов, нанесение антибактериального покрытия, сбор и анализ литературных источников, статистическая обработка данных; Н.А. Цап — научный консультант исследования, редактирование текста статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования и подготовке публикации.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ADDITIONAL INFORMATION

Authors' contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the study, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the article, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the study. Personal contribution of each author: I.I. Gordienko — study design development, laboratory animal surgery; S.A. Borisov — carrying out surgical interventions on laboratory animals, assessment of morphological results, literature review, literature collection and analysis, CT scan analysis, text writing and article editing; G.A. Baigonakova — literature review, collection and analysis of literary sources, statistical data processing, preparation and writing of the text of the article; E.S. Marchenko — development of the study design, manufacture of nickel-titanium implants, collection and analysis of literary sources, preparation and writing of the text of the article; V.A. Larikov — manufacture of nickel-titanium implants, application of an antibacterial coating, collection and analysis of literary sources, statistical data processing; N.A. Tsap — scientific consultant to the study, editing the text of the article.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bozic K.J., Ries M.D. The impact of infection after total hip arthroplasty on hospital and surgeon resource utilization // *J Bone Joint Surg Am.* 2005. Vol. 87, N. 8. P. 1746–1751. doi: 10.2106/JBJS.D.02937
2. Хон В.Э., Загородний Н.В., Комлев В.С., и др. Влияние степени замещения кальция серебром в трикальцийфосфате на его биологические свойства *in vitro* // *Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова.* 2013. Т. 20, № 4. С. 23–28. EDN: RTKACB
3. Czyzewski K., Galazka P., Zalas-Wieczek P., et al. Infectious complications in children with malignant bone tumors: a multicenter nationwide study // *Infect Drug Resist.* 2019. Vol. 30, N. 12. P. 1471–1480. doi: 10.2147/IDR.S199657
4. Lake J., Gordon O. Implant-associated spinal infections in children: how can we improvediagnosis and management? // *Infect Dis Clin North Am.* 2022. Vol. 36, N. 1. P. 101–123. doi: 10.1016/j.idc.2021.11.005
5. Yashchuk Yu.F., Gyunter S.V., Marchenko E.S., Iuzhakov M.M. Biocompatibility of porous SHS-TiNi // *Mater Sci Forum.* 2019. Vol. 970, N. 12. P. 320–327. doi: 10.4028/www.scientific.net/MSF.970.320
6. Topolnitskiy E., Chekalkin T., Marchenko E., et al. Evaluation of clinical performance of TiNi-based implants used in chest wall repair after resection for malignant tumors // *J Funct Biomater.* 2021. Vol. 12, N. 4. P. 60–71. doi: 10.3390/jfb12040060
7. Sevilla P., Aparicio C., Planell J.A., Gil F.J. Comparison of the mechanical properties between tantalum and nickel-titanium foams implant materials for bone ingrowth applications // *J Alloys Compd.* 2007. Vol. 439, N. 1-2. P. 67–73. doi: 10.1016/j.jallcom.2006.08.069
8. Hornbogen E. Microstructure and thermo-mechanical properties of NiTi shape memory alloys // *Mater Sci Forum.* 2004. Vol. 455, N. 2. P. 335–341. doi: 10.4028/www.scientific.net/MSF.455-456.335
9. Marchenko E.S., Luchsheva V., Baigonakova G.A., et al. Functionalization of the surface of porous nickel-titanium alloy with macrocyclic compounds // *Materials.* 2022. Vol. 16, N. 1. P. 66–78. doi: 10.3390/ma16010066
10. Marchenko E.S., Baigonakova G.A., Yashchuk Y.F., et al. Structure, biocompatibility and corrosion resistance of the ceramic-metal surface of porous nitinol // *Ceram Int.* 2022. Vol. 48, N. 22. P. 33514–33523. doi: 10.1016/j.ceramint.2022.07.296
11. Oh K.-T., Joo U.-H., Park G.-H., et al. Effect of silver addition on the properties of nickel-titanium alloys for dental application // *J Biomed Mater.* 2006. Vol. 76B, N. 12. P. 306–314. doi: 10.1002/jbm.b.30369
12. Zhao L., Chu P.K., Zhang Y., Wu Z. Antibacterial coatings on titanium implants // *J Biomed Mater Res.* 2009. Vol. 91, N. 1. P. 470–480. doi: 10.1002/jbm.b.31463
13. Chouirfa H., Bouloussa H., Migonney V., Falentin-Daudré C. Review of titanium surface modification techniques and coatings for antibacterial applications // *Acta biomaterialia.* 2019. Vol. 83, N. 1. P. 37–54. doi: 10.1016/j.actbio.2018.10.036
14. Ferraris S., Spriano S. Antibacterial titanium surfaces for medical implants // *Mater Sci Eng.* 2016. Vol. 61, N. 2. P. 965–978. doi: 10.1016/j.msec.2015.12.062
15. Schmidt-Braekling T., Streitbuerger A., Gosheger G., et al. Silver-coated megaprotheses: review of the literature //

Eur J Orthop Surg Traumatol. 2017. Vol. 27, N. 4. P. 483–489. doi: 10.1007/s00590-017-1933-9

16. Liu X., Gan K., Liu H., et al. Antibacterial properties of nano-silver coated PEEK prepared through magnetron sputtering // *Dent Mater.* 2017. Vol. 33, N. 9. P. 348–360. doi: 10.1016/j.dental.2017.06.014

17. Kim J.S., Kuk E., Yu K.N., et al. Antimicrobial effects of silver nanoparticles // *Nanomedicine, nanotechnology, biology, and medicine.* 2007. Vol. 3, N. 1. P. 95–101. doi: 10.1016/j.nano.2006.12.001

18. Aurore V., Caldana F., Blanchard M., et al. Silver-nanoparticles increase bactericidal activity and radical oxygen responses against bacterial pathogens in human osteoclasts // *Nanomedicine.* 2018. Vol. 14, N. 2. P. 601–607. doi: 10.1016/j.nano.2017.11.006

19. Praba V.L., Kathirvel M., Vallayachari K., et al. Bactericidal effect of silver nanoparticles against mycobacterium tuberculosis // *J Bionanosci.* 2013. Vol. 7, N. 3. P. 282–287. doi: 10.1166/jbns.2013.1138

20. Van Dong P., Ha C.H., Binh L.T., et al. Chemical synthesis and antibacterial activity of novel-shaped silver nanoparticles // *Int Nano Lett.* 2012. Vol. 2, N. 2. P. 9–18. doi: 10.1186/2228-5326-2-9

21. Thangavel E., Dhandapani V.S., Dharmalingam K., et al. RF magnetron sputtering mediated NiTi/Ag coating on Ti-alloy substrate with enhanced biocompatibility and durability // *Mater Sci Eng.* 2019. Vol. 99, N. 4. P. 304–314. doi: 10.1016/j.msec.2019.01.099

22. Martinez-Gutierrez F., Olive P.L., Banuelos A., et al. Synthesis, characterization, and evaluation of antimicrobial and cytotoxic effect of silver and titanium nanoparticles // *Nanomedicine: nanotechnology, biology, and medicine.* 2010. Vol. 6, N. 5. P. 681–688. doi: 10.1016/j.nano.2010.02.001

23. Albers C.E., Hofstetter W., Siebenrock K.A., et al. *In vitro* cytotoxicity of silver nanoparticles on osteoblasts and osteoclasts at antibacterial concentrations // *Nanotoxicology.* 2013. Vol. 7, N. 1. P. 30–36. doi: 10.3109/17435390.2011.626538

24. Marchenko E.S., Baigonakova G.A., Kokorev O.V., et al. Phase equilibrium, structure, mechanical and biocompatible properties of TiNi-based alloy with silver // *Mater. Res. Express.* 2019. Vol. 6, N. 6. P. 1–11. doi: 10.1088/2053-1591/ab0edd

25. Pauksch L., Rohnke M., Schnettler R., Lips K.S. Silver nanoparticles do not alter human osteoclastogenesis but induce cellular uptake // *Toxicol Rep.* 2014. Vol. 1, N. 1. P. 900–908. doi: 10.1016/j.toxrep.2014.10.012

26. Goodman S.B., Yao Z., Keeney M., Yang F. The future of biologic coatings for orthopaedic implants // *Biomaterials.* 2013. Vol. 34, N. 13. P. 3174–3183. doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.01.074

27. Marchenko E., Baigonakova G., Larikov V., et al. Structure and mechanical properties of porous TiNi alloys with Ag nanoparticles // *Coatings.* 2023. Vol. 13, N. 1. P. 24–37. doi: 10.3390/coatings13010024

28. Boudreau M.D., Imam M.S., Paredes A.M., et al. Differential effects of silver nanoparticles and silver ions on tissue accumulation, distribution, and toxicity in the sprague dawley rat following daily oral gavage administration for 13 weeks // *Toxicol Sci.* 2016. Vol. 150, N. 1. P. 131–160. doi: 10.1093/toxsci/kfv318

29. Guo H., Zhang J., Boudreau M., et al. Intravenous administration of silver nanoparticles causes organ toxicity through intracellular ROS-related loss of inter-endothelial junction // *Part Fibre Toxicol.* 2016. Vol. 13, N. 3. P. 21–33. doi: 10.1186/s12989-016-0133-9

REFERENCES

1. Bozic KJ, Ries MD. The impact of infection after total hip arthroplasty on hospital and surgeon resource utilization. *J Bone Joint Surg Am.* 2005;87(8):1746–1751. doi: 10.2106/JBJS.D.02937

2. Khon VE, Zagorodnyy NV, Komlev VS, et al. Influence of the degree of calcium substitution by argentum in tricalcium phosphate on its biological properties *in vitro.* *N.N. Priorov journal of traumatology and orthopedics.* 2013;20(4):23–28. EDN: RTKACB

3. Czyzewski K, Galazka P, Zalas-Wiecek P, et al. Infectious complications in children with malignant bone tumors: a multicenter nationwide study. *Infect Drug Resist.* 2019;30(12):1471–1480. doi: 10.2147/IDR.S199657

4. Lake J, Gordon O. Implant-associated spinal infections in children: how can we improve diagnosis and management? *Infect Dis Clin North Am.* 2022;36(1):101–123. doi: 10.1016/j.idc.2021.11.005

5. Yashchuk YuF, Gyunter SV, Marchenko ES, Iuzhakov MM. Biocompatibility of porous SHS-TiNi. *Mater Sci Forum.* 2019;970(12):320–327. doi: 10.4028/www.scientific.net/MSF.970.320

6. Topolnitskiy E, Chekalkin T, Marchenko E, et al. Evaluation of clinical performance of TiNi-based implants used in chest wall repair after resection for malignant tumors. *J Funct Biomater.* 2021;12(4):60–71. doi: 10.3390/jfb12040060

7. Sevilla P, Aparicio C, Planell JA, Gil FJ. Comparison of the mechanical properties between tantalum and nickel-titanium foams implant materials for bone ingrowth applications. *J Alloys Compd.* 2007;439(1-2):67–73. doi: 10.1016/j.jallcom.2006.08.069

8. Hornbogen E. Microstructure and thermo-mechanical properties of NiTi shape memory alloys. *Mater Sci Forum.* 2004;455(2):335–341. doi: 10.4028/www.scientific.net/MSF.455-456.335

9. Marchenko ES, Luchsheva V, Baigonakova GA, et al. Functionalization of the surface of porous nickel-titanium alloy with macrocyclic compounds. *Materials.* 2022;16(1):66–78. doi: 10.3390/ma16010066

10. Marchenko ES, Baigonakova GA, Yashchuk YF, et al. Structure, biocompatibility and corrosion resistance of the ceramic-metal surface of porous nitinol. *Ceram Int.* 2022;48(22):33514–33523. doi: 10.1016/j.ceramint.2022.07.296

11. Oh K-T, Joo U-H, Park G-H, et al. Effect of silver addition on the properties of nickel-titanium alloys for dental application. *J Biomed Mater.* 2006;76B(12):306–314. doi: 10.1002/jbm.b.30369

12. Zhao L, Chu PK, Zhang Y, Wu Z. Antibacterial coatings on titanium implants. *J Biomed Mater Res.* 2009;91(1):470–480. doi: 10.1002/jbm.b.31463

13. Chouirfa H, Bouloussa H, Migonney V, Falentin-Daudré C. Review of titanium surface modification techniques and coatings for antibacterial applications. *Acta biomaterialia.* 2019;83(1):37–54. doi: 10.1016/j.actbio.2018.10.036

14. Ferraris S, Spriano S. Antibacterial titanium surfaces for medical implants. *Mater Sci Eng.* 2016;61(2):965–978. doi: 10.1016/j.msec.2015.12.062

15. Schmidt-Braekling T, Streitbuenger A, Gosheger G, et al. Silver-coated megaprotheses: review of the literature. *Eur J Orthop Surg Traumatol.* 2017;27(4):483–489. doi: 10.1007/s00590-017-1933-9

16. Liu X, Gan K, Liu H, et al. Antibacterial properties of nano-silver coated PEEK prepared through magnetron sputtering. *Dent Mater.* 2017;33(9):348–360. doi: 10.1016/j.dental.2017.06.014
17. Kim JS, Kuk E, Yu KN, et al. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine, nanotechnology, biology, and medicine.* 2007;3(1):95–101. doi: 10.1016/j.nano.2006.12.001
18. Aurore V, Caldana F, Blanchard M, et al. Silver-nanoparticles increase bactericidal activity and radical oxygen responses against bacterial pathogens in human osteoclasts. *Nanomedicine.* 2018;14(2):601–607. doi: 10.1016/j.nano.2017.11.006
19. Praba VL, Kathirvel M, Vallayachari K, et al. Bactericidal effect of silver nanoparticles against mycobacterium tuberculosis. *J Bionanosci.* 2013;7(3):282–287. doi: 10.1166/jbns.2013.1138
20. Van Dong P, Ha CH, Binh LT, et al. Chemical synthesis and antibacterial activity of novel-shaped silver nanoparticles. *Int Nano Lett.* 2012;2(2):9–18. doi: 10.1186/2228-5326-2-9
21. Thangavel E, Dhandapani VS, Dharmalingam K, et al. RF magnetron sputtering mediated NiTi/Ag coating on Ti-alloy substrate with enhanced biocompatibility and durability. *Mater Sci Eng.* 2019;99(4):304–314. doi: 10.1016/j.msec.2019.01.099
22. Martinez-Gutierrez F, Olive PL, Banuelos A, et al. Synthesis, characterization, and evaluation of antimicrobial and cytotoxic effect of silver and titanium nanoparticles. *Nanomedicine: nanotechnology, biology, and medicine.* 2010;6(5):681–688. doi: 10.1016/j.nano.2010.02.001
23. Albers CE, Hofstetter W, Siebenrock KA, et al. *In vitro* cytotoxicity of silver nanoparticles on osteoblasts and osteoclasts at antibacterial concentrations. *Nanotoxicology.* 2013;7(1):30–36. doi: 10.3109/17435390.2011.626538
24. Marchenko ES, Baigonakova GA, Kokorev OV, et al. Phase equilibrium, structure, mechanical and biocompatible properties of TiNi-based alloy with silver. *Mater. Res. Express.* 2019;6(6):1–11. doi: 10.1088/2053-1591/ab0edd
25. Pauusch L, Rohnke M, Schnettler R, Lips KS. Silver nanoparticles do not alter human osteoclastogenesis but induce cellular uptake. *Toxicol Rep.* 2014;1(1):900–908. doi: 10.1016/j.toxrep.2014.10.012
26. Goodman SB, Yao Z, Keeney M, Yang F. The future of biologic coatings for orthopaedic implants. *Biomaterials.* 2013;34(13):3174–3183. doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.01.074
27. Marchenko E, Baigonakova G, Larikov V, et al. Structure and mechanical properties of porous TiNi alloys with Ag nanoparticles. *Coatings.* 2023;13(1):24–37. doi: 10.3390/coatings13010024
28. Boudreau MD, Imam MS, Paredes AM, et al. Differential effects of silver nanoparticles and silver ions on tissue accumulation, distribution, and toxicity in the sprague dawley rat following daily oral gavage administration for 13 weeks. *Toxicol Sci.* 2016;150(1):131–160. doi: 10.1093/toxsci/kfv318
29. Guo H, Zhang J, Boudreau M, et al. Intravenous administration of silver nanoparticles causes organ toxicity through intracellular ROS-related loss of inter-endothelial junction. *Part Fibre Toxicol.* 2016;13(3):21–33. doi: 10.1186/s12989-016-0133-99

ОБ АВТОРАХ

Семён Александрович Борисов; ORCID: 0000-0002-1783-3776; eLibrary SPIN: 5782-1443; e-mail: drborissovs@gmail.com

***Иван Иванович Гордиенко**, канд. мед. наук, доцент; адрес: Россия, 620028, Екатеринбург, ул. Репина, д. 3; ORCID: 0000-0003-3157-4579; eLibrary SPIN: 5368-0964; e-mail: ivan-gordienko@mail.ru

Наталья Александровна Цап, д-р мед. наук, профессор; ORCID: 0000-0001-9050-3629; eLibrary SPIN: 7466-8731; e-mail: tsapna-ekat@rambler.ru

Гульшарат Аманболдыновна Байгонакова, канд. мед. наук; ORCID: 0000-0001-9853-2766; eLibrary SPIN: 1192-6016; e-mail: gat27@mail.ru

Екатерина Сергеевна Марченко, д-р физ.-мат. наук; ORCID: 0000-0003-4615-5270; eLibrary SPIN: 7116-2901; e-mail: 89138641814@mail.ru

Виктор Андреевич Лариков; ORCID: 0009-0002-3365-5997; e-mail: calibra1995@gmail.com

AUTHORS INFO

Semyon A. Borisov; ORCID: 0000-0002-1783-3776; eLibrary SPIN: 5782-1443; e-mail: drborissovs@gmail.com

***Ivan I. Gordienko**, MD, Cand. Sci. (Medicine); address: 3 Repina st., Ekaterinburg, 620028, Russia; ORCID: 0000-0003-3157-4579; eLibrary SPIN: 5368-0964; e-mail: ivan-gordienko@mail.ru

Natalya A. Tsap, MD, Dr. Sci. (Medicine), Professor; ORCID: 0000-0001-9050-3629; eLibrary SPIN: 7466-8731; e-mail: tsapna-ekat@rambler.ru

Gulsharat A. Baigonakova, MD, Cand. Sci. (Medicine); ORCID: 0000-0001-9853-2766; eLibrary SPIN: 1192-6016; e-mail: gat27@mail.ru

Ekaterina S. Marchenko, Dr. Sci. (Physics and Mathematics); ORCID: 0000-0003-4615-5270; eLibrary SPIN: 7116-2901; e-mail: 89138641814@mail.ru

Victor A. Larikov; ORCID: 0009-0002-3365-5997; e-mail: calibra1995@gmail.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author