

На правах рукописи

ЛИТВИНОВ
Юрий Юрьевич

**БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ПОЛУЧЕНИЯ КОСТНЫХ
ИМПЛАНТАТОВ И ИМПЛАНТАЦИОННЫХ ПРЕПАРАТОВ**

03.01.06 – Биотехнология (в т.ч. бионанотехнологии)

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва 2019

Работа выполнена в Научно-исследовательском и учебно-методическом центре биомедицинских технологий Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений»

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор
Матвейчук Игорь Васильевич
руководитель НИЦ БМТ ФГБНУ ВИЛАР

Официальные оппоненты: член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор
Ярыгин Николай Владимирович
заведующий кафедрой медицины катастроф и безопасности жизнедеятельности ГБОУ ВПО Московский Государственный Медико-Стоматологический Университет им. А.И. Евдокимова

доктор биологических наук, профессор
Слесаренко Наталья Анатольевна
декан факультета ветеринарной медицины, заведующая кафедрой анатомии и гистологии животных им. А.Ф. Климова ФГБОУ ВО Московская Государственная Академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина

Ведущее учреждение: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» (ФГБОУ ВО СамГМУ)

Защита состоится «26» июня 2019 г. в ____ часов на заседании Диссертационного совета Д999.095.03 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева» по адресу: 125047, г.Москва, Миусская площадь, д.9. С диссертацией можно ознакомиться в Научно-информационном центре РХТУ им. Д.И. Менделеева и на сайте: <http://diss.muctr.ru/>.

Автореферат разослан «__» _____ 2019 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета Д999.095.03

И.В. Шакир

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы

Актуальность работы обусловлена возрастанием объема реконструктивно-восстановительных операций в биоимплантологии, а также развитием биотехнологии в области репродукции тканей, что объясняется увеличением продолжительности жизни населения на планете и, как следствие, ухудшение с возрастом качества соединительных тканей и повышением травматизма в пожилом возрасте; увеличение локальных военных конфликтов, техногенных катастроф, ухудшением экологии.

В этой связи требуются современные наукоемкие технологии получения имплантатов в том числе новых адсорбционных биоимплантологических форм препаратов с использованием костной ткани в качестве сорбционной основы для иммобилизации биологически активных соединений, обеспечивающих их адресную доставку в область оперативного вмешательства для исключения инфицирования и ускорения процесса репаративной регенерации в гнойной остеологии, восстановления соединительной ткани в инфицированных ранах, резорбции и замещения имплантата новой костной тканью.

Целью настоящей работы является теоретическое обоснование и усовершенствование биотехнологических приемов получения костных имплантатов, создание на их основе имплантационных препаратов для биоимплантологии.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие **задачи**:

1. усовершенствовать методологию, включающую современные методы изготовления, контроля качества и оценки безопасности костных имплантатов;
2. провести экспериментальную апробацию предложенных методов;
3. осуществить оптимизацию технологии стерилизации костных имплантатов с использованием озонного метода;
4. исследовать сорбционную способность деминерализованного костного имплантата, динамику высвобождения адсорбированного лекарственного средства;
5. усовершенствовать биотехнологические приемы изготовления костных имплантационных препаратов с использованием антимикробного лекарственного средства для целей биоимплантологии;

б. предложить и обосновать показатели контроля качества, оценки безопасности костных имплантатов и имплантационных препаратов для биоимплантологии.

Научная новизна исследования заключается в следующем:

Разработаны показатели контроля качества и оценки безопасности костных имплантатов, усовершенствована методология контроля качества и оценки безопасности костных имплантатов, включая деминерализованные.

Предложено научно-методическое обеспечение, позволяющее осуществить технологический цикл изготовления костных и деминерализованных имплантатов с иммобилизацией антимикробного лекарственного средства с целью ускорения процесса репаративной регенерации в гнойной остеологии.

Отработаны биотехнологические приемы получения имплантационного препарата на основе стерильного деминерализованного костного матрикса, обладающего в сочетании с иммобилизованным лекарственным средством, выраженными антимикробными, противовирусными и антимикотическими свойствами.

Исследование выполнено в рамках программы фундаментальных научных исследований РАН на (2013 – 2020) г. по направлению: «Исследование биологических структур на стадиях их формирования, функционирования и сохранения»; плана научно-исследовательской работы ФГБНУ ВИЛАР по пункту: «Репродукция клеток, тканей и органов для имплантации и эффективного биопротезирования», а также соответствует тематике фундаментальных научных исследований РАН на (2020 – 2030) г. по направлению: «Физиология опорного каркаса двигательных систем, репродукция и биопротезирование».

Научная новизна подтверждается патентами Российской Федерации на изобретение: «Способ изготовления костных имплантатов» № 2526429 от 11 апреля 2013 г., «Комбинированный способ стерилизации костных имплантатов» № 2630464 от 29 июля 2017 г., «Способ получения костного имплантата на основе стерильного деминерализованного костного матрикса» № 2679121 от 06 февраля 2019 г.

Теоретическая и практическая значимость работы

В проведенном исследовании разработаны и экспериментально апробированы:

- усовершенствованные биотехнологические приемы получения костных имплантатов;
- современная методология, включающая комплекс методов оценки качества и контроля безопасности имплантатов;
- предложены высокотехнологичные методы изготовления костных имплантационных препаратов с антимикробными свойствами;
- способ получения имплантационного препарата для снижения риска инфицирования в операционный и послеоперационный периоды, обеспечения репаративной регенерации в инфицированных костных ранах.

Личный вклад автора

Автором сформулированы цели, задачи, основные положения, выносимые на защиту, выводы по работе. Экспериментально установлены и научно обоснованы оптимальные режимы биотехнологических приемов обработки костных фрагментов для получения имплантатов, предложена современная методология контроля качества и оценки безопасности имплантатов. Автор принимал непосредственное участие в экспериментах по усовершенствованию способа получения имплантатов с применением метода стерилизации озono-кислородной смесью. Автором исследованы сорбционные свойства деминерализованных имплантатов для иммобилизации на их основе лекарственного средства. Проведен анализ и обобщение результатов, подготовлены материалы для заявок на получение трех патентов на изготовление костных имплантатов на основе стерильного деминерализованного костного матрикса с антимикробными свойствами.

Положения, выносимые на защиту

1. Биотехнологические основы получения нативных и деминерализованных костных имплантатов, методы их стерилизации.
2. Полученный имплантационный препарат на основе стерильного деминерализованного костного матрикса и субстанции алкалоидов сангвинарина и хелеритрина.
3. Разработанные показатели оценки качества и контроля безопасности на стадиях получения костных имплантатов и имплантационных препаратов.

Апробация результатов

1. VII Всероссийский симпозиум с международным участием: «Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии». – Астрахань, 2017.
2. Научно-техническая конференция «Медико-технические технологии на страже здоровья».- Москва, МГТУ им. Н.Э. Баумана, 2017 г.
3. Международная научная конференция «Радиобиология: вызовы XXI века».-Гомель, ГНУ «Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси», 2017 г.
4. XIII Международная научная конференция «Физика и радиоэлектроника в медицине и экологии – ФРЭМЭ 2018».- Владимир-Суздаль, 2018 г.
5. Международная научная конференция «Радиобиология: актуальные проблемы». - Гомель, ГНУ «Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси», 2018 г.
6. Заседание секции по поиску биологически активных веществ и разработке лекарственных растительных препаратов Ученого совета ФГБНУ ВИЛАР от 21.11.2018 г.
7. Заседание Ученого совета ФГБНУ ВИЛАР 28.11.2018 г.

Структура и объем работы

Диссертационная работа состоит из следующих разделов: введение, 4 глав - обзор литературы, материалы и методы исследования, экспериментальная часть и методические разработки, обсуждение полученных результатов, выводы, список литературы (139 источников). Работа изложена на 149 страницах текста, включая 64 рисунка и 16 таблиц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Введение

Во введении обоснована актуальность диссертационной работы, сформулированы цель и задачи исследования, представлены научная новизна работы, ее теоретическая и практическая значимость, а также основные положения, выносимые на защиту.

Глава 1. Обзор литературы

В обзоре литературы рассмотрены строение костной ткани и основные методы изучения минерализованных биологических тканей, нозология заболеваний костной

ткани и клинические аспекты ее восстановления. В главе представлен обзор материалов для изготовления имплантатов, требований, предъявляемых к костным имплантатам, а также современных методов их стерилизации. Показаны фармакологические свойства растительного лекарственного антимикробного средства – сангвиритрин® и эффективность его применения в клинической практике.

Глава 2. Материалы и методы исследования

В данной главе представлен объект исследования, перечислены методы и инструментарий, использованные в работе.

Объект исследования – компактное вещество диафиза бедренной кости быка и субстанция (далее сангвиритрин) - сумма бисульфатов двух близких по структуре и физико-химическим свойствам четвертичных бензо[с]фенантридиновых алкалоидов сангвинарина и хелеритрина (Фармакопейная статья 42-2444-98).

Методы исследования и биотехнологические приемы:

- приемы механической обработки кости с использованием специального инструментария, который обеспечил технологичность при работе с минерализованной биологической тканью при сохранении ее исходных свойств и микроструктуры, применимость в условиях ограниченного количества материала с учетом направления остеонных структур в процессе получения имплантатов;
- биомеханические испытания костной ткани на сжатие с применением макрообразцов и микротвердость по Виккерсу в микрообъемах образцов кости;
- морфологические исследования (световая и сканирующая электронная микроскопия);
- элементный анализ с использованием энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии;
- абсорбционная фотометрия;
- деминерализация костных имплантатов с применением 0,8 н раствора соляной кислоты;
- проверка микробной контаминации имплантатов после из стерилизации озono-кислородной смесью [22], радиацией и комбинированным способом стерилизации [2] с использованием питательных сред: тиогликолевая среда и среда Сабуро.

Глава 3. Экспериментальная часть и методические разработки

В экспериментальной части представлена современная методология включающая методы и приемы получения, контроля качества, оценки безопасности костных имплантатов. Проведена оценка сорбционных свойств деминерализованных имплантатов и пролонгированного высвобождения лекарственного средства. Усовершенствованы биотехнологические приемы получения костных имплантатов с неизменным композитным составом, деминерализованных костных имплантатов с антимикробными свойствами.

Методы и биотехнологические приемы можно представить в виде трех групп.

Обработка кости:

1. Механическая обработка кости диафиза бедренной кости быка, получение имплантатов с учетом направления остеонных структур кости.

а)



→ б)



в)



→ г)



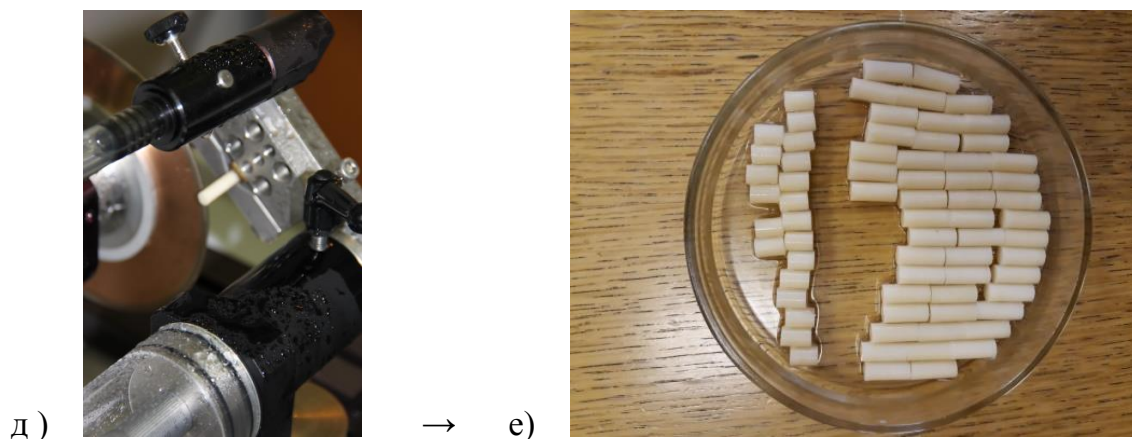


Рисунок 1 - Получение костных имплантатов с учетом направления остеонных структур кости: а) разделенный на фрагменты диафиз бедренной кости быка; б) получение цилиндрических заготовок с использованием полых фрез в охлаждающей среде; в) фрагмент диафиза с цилиндрическими заготовками; г) заготовки цилиндрической формы; д) обработка торцевых поверхностей заготовок в охлаждающей среде; е) цилиндрические костные имплантаты

Определение биомеханических характеристик кости:

1. Предел прочности костных образцов при сжатии

Результаты механических испытаний костных имплантатов на сжатие позволили рассчитать предел прочности в МПа костной ткани в продольном направлении (по отношению к оси остеонов) нативных образцов диаметром 5 и высотой 12,5 мм, полученных из диафиза бедренной кости быка (Таблица 1).

Таблица 1 - Предел прочности образцов при сжатии

Кол-во измерений	Нативные образцы
	Предел прочности образцов, МПа ($M \pm m$)
10	$222,56 \pm 8,6$

Рассчитанный предел прочности при сжатии испытанных костных образцов (имплантатов) соответствует ранее опубликованным данным других авторов, что свидетельствует о качестве взятых для исследования образцов костной ткани, а также служить критерием для выбора костных фрагментов при получении имплантатов.

2. Микротвердость имплантатов по Виккерсу.

Полученные данные микротвердости контрольных образцов по Виккерсу [6] свидетельствуют о том, что комбинированный способ стерилизации озон-кислородной смесью с обработкой потоком быстрых электронов с дозой поглощения

10 и 15 кГр [2] не оказывает существенного влияния на упруго-пластические характеристики поверхностного слоя имплантатов.

Биологические характеристики и элементный анализ контрольных образцов:

1. Стерилизация костных имплантатов и их упаковки комбинированным способом с проверкой обсемененности.

С целью обеспечения стерильности при сохранении остеоиндуктивных свойств имплантатов применена технология комбинированной стерилизации костных имплантатов (первый этап - озono-кислородная смесь; второй этап - радиационная обработка потоком быстрых электронов), которая обеспечила достижение эффективной стерилизации образцов при снижении радиационной дозы поглощения до 10 кГр с общепринятых 25 кГр. Эксперименты по второму этапу нового разработанного метода комбинированной стерилизации – радиационная обработка костных образцов проводились на лабораторной базе НИИЯФ МГУ им. М.Ю. Ломоносова.

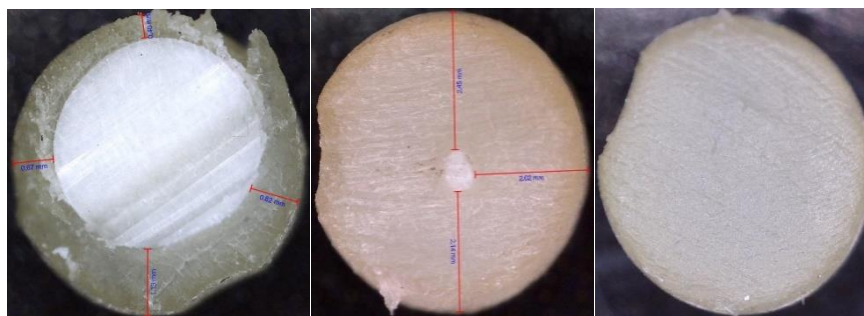
Стерильность через 14 суток эксперимента продемонстрировали только образцы, подвергавшиеся комбинированному воздействию – последовательной обработке озono-кислородной смесью с концентрацией 6-8 мг/л в течение 10-20 мин и радиационному облучению с величинами поглощенных доз – 10 и 15 кГр.

2. Морфологическое исследование контрольных образцов.

Морфологическое исследование показало отсутствие структурных изменений в поверхностном слое ткани после физико-химических воздействий, что свидетельствует о том, что апробированные методы в рамках разработанной методологии получения ксеноимплантатов оставляют центральные каналы остеонов в «открытом» состоянии, что способствует остеоиндукции, т.к. открытые каналы остеонов костных имплантатов позволяют клеткам мигрировать и играют роль матрицы при дальнейшем росте ткани.

3. Удаление минеральной фазы из костной ткани и контроль деминерализации с использованием световой микроскопии.

На Рисунке 2 показана динамика изменения структуры костной ткани на поперечном срезе образцов цилиндрической формы диаметром 5 мм на различных этапах деминерализации раствором соляной кислоты 0,8 моль/дм³.



24 часа

48 часов

72 часа

Рисунок 2 - Изменение структуры костной ткани на разных этапах деминерализации

4. Элементный анализ. Контроль деминерализации имплантатов с использованием рентгеновской спектроскопии (Таблица 2).

Таблица 2 - Результаты элементного анализа

№	Химический элемент	Доля атомов в % (контроль)	Доля атомов в % (деминерализованный матрикс)
1.	O	68,92±0,7	62,33±0,7
2.	Ca	10,69±0,6	нет
3.	P	7,61±0,3	0,17±0,04
4.	N	6,11±0,26	15,63±0,2
5.	C	4,52±0,2	20,54±0,2
6.	Na	1,55±0,09	нет
7.	Mg	0,57±0,02	нет

5. Сорбционные свойства имплантата и время высвобождения лекарственного средства (иммобилизация, проверка пролонгированного действия и проверка на подлинность лекарственного средства).

Иммобилизацию сангвиритрина на естественных поверхностях деминерализованных костных ксеноимплантатов осуществляли путем их инкубации в растворе 0,9% натрия хлорида с концентрацией сангвиритрина 0,2% в течение 72 (опыт №1) и 144 (опыт №2) часов при $t = 37^{\circ}\text{C}$.

Высвобождение сангвиритрина в 0,9% раствор натрия хлорида контролировали по результатам измерения оптической плотности раствора и определением

количества высвобожденного сангвиритрина с использованием ранее построенной калибровочной кривой.

В соответствии с полученными количественными усредненными данными построены кривые, показывающие динамику высвобождения сангвиритрина из имплантатов в зависимости от времени их инкубации в растворе 0,9% натрия хлорида с концентрацией сангвиритрина 0,2%.

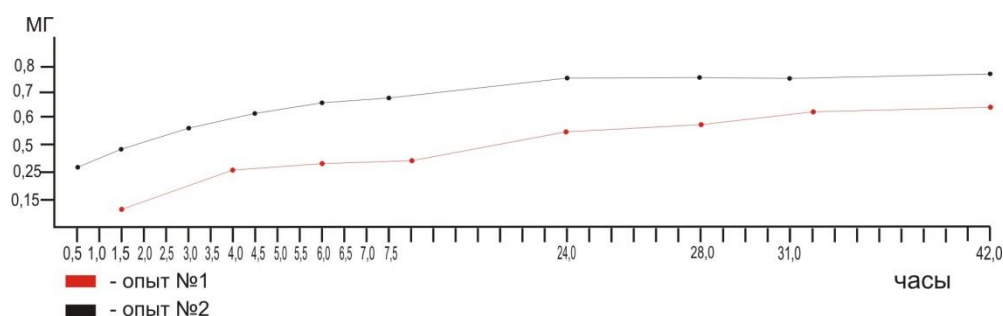


Рисунок 3 - Динамика высвобождения сангвиритрина

Количество высвобожденного через 42 часа в 0,9% раствор натрия хлорида адсорбированного сангвиритрина из контрольных образцов в опыте №2 в среднем для одного образца составило 0,784 мг, что превысило количество высвобожденного сангвиритрина для одного образца в опыте №1 на 25 % при двукратном увеличении времени инкубации. Следовательно, оптимальное время инкубации деминерализованных костных ксеноимплантатов в раствор 0,9% натрия хлорида с концентрацией сангвиритрина 0,2% при 37°C составляет около 72 часов.

Подлинность высвобожденного в раствор 0,9% натрия хлорида сангвиритрина проверяли в соответствии с фармакопейной статьей ФС 42-3572-98 (Раствор сангвиритрина 0,2%). К 5 мл раствора 0,9% натрия хлорида с высвобожденным из образцов сангвиритрином добавляли 3 капли реактива Майера, что давало характерную реакцию на сульфаты - в растворе образовался осадок оранжевого цвета (алкалоиды), что свидетельствовало о подлинности высвобожденного сангвиритрина и отсутствии химического взаимодействия между коллагеном деминерализованного костного матрикса и алкалоидами.

Исследования антимикробных свойств алкалоидов сангвинарина и хелеритрина после радиационной стерилизации не проводили, т.к. согласно микробиологическому исследованию, проведенному в Витебском Государственном Медицинском Университете «Лабораторная оценка влияния радиационной стерилизации на

химическую и антимикробную активность лекарственного средства «ФИТОМП» и его компонента – Маклейи мелкоплодной», установлено отсутствие влияния радиационной стерилизации с величинами поглощенных доз 2,5 - 25 кГр на качественный состав, количественное содержание алкалоидов сангвинарина и хелеритрина, а также на их антимикробную активность.

Основы технологии получения костных имплантатов, деминерализованных костных имплантатов и деминерализованных костных имплантатов с антимикробными, противовирусными и противомикотическими свойствами

В соответствии с методологией и экспериментально апробированными методами изготовления, проверки качества и оценки безопасности костных имплантатов предложена усовершенствованная биотехнология получения имплантатов для их применения в биоимплантологии, в гнойной остеологии, в том числе для восстановления соединительной ткани в инфицированных ранах.



Рисунок 4 - Схема-алгоритм технологии получения костных имплантатов и имплантационных препаратов

Показатели контроля качества и безопасности костных имплантатов и имплантационных препаратов

Проведенные исследования позволили предложить критерии контроля качества кортикальной кости диафиза бедренной кости быка, которые необходимо учитывать при выборе костных фрагментов и получении из нее ксеноимплантатов [6].

Выводы

1. В соответствии с усовершенствованной методологией получения, контроля качества и оценки безопасности костных имплантатов, получены костные имплантаты 2-х видов и имплантационный препарат: костные имплантаты с неизменным композитным составом, деминерализованные имплантаты, имплантационный препарат на основе стерильного деминерализованного костного матрикса с антимикробными, противовирусными и антимикотическими свойствами.

2. Разработана современная технология изготовления костных имплантатов и имплантационных препаратов с применением инновационного комбинированного способа стерилизации, основанного на предварительном воздействии озон-кислородной смеси и с последующим радиационным облучением, обеспечивающим стерильность, неразрушающее стерилизующее воздействие на имплантат, снижение величины дозы радиационного поглощения в 2 раза с сохранением остеоиндуктивных свойств имплантата.

3. Предложены биотехнологические основы включающие технологии производства костных имплантатов, которые отличаются от традиционных способов производства технологичностью, применимостью в условиях ограниченного количества материала, позволяют учитывать направление остеонных структур кости; деминерализацию раствором соляной кислоты 0,8 н с получением деминерализованного матрикса – носителя лекарственного средства.

4. Исследована сорбционная способность деминерализованного костного матрикса, время высвобождения из него биологически активного вещества. Доказано пролонгирующее действие высвобождаемого биологически активного вещества и отсутствие химического взаимодействия между алкалоидами сангвинарина, хелеритрина и коллагеном деминерализованного имплантата.

5. Предложены показатели качества костных имплантатов для их эффективного применения в биоимплантологии, что подтверждено патентами Российской Федерации на изобретения: «Способ изготовления костных имплантатов», «Комбинированный способ стерилизации костных имплантатов».

6. Отработана биотехнология получения имплантационного препарата, оформлен патент Российской Федерации на изобретение: «Способ получения

костного имплантата на основе стерильного деминерализованного костного матрикса» для применения в гнойной остеологии и репарации соединительных тканей в инфицированных ранах с использованием биологически активного лекарственного средства растительного происхождения – сангвиритрин® с антимикробными, противовирусными и антимикотическими свойствами.

Список работ, опубликованных автором по теме диссертации

1. Алимов А.С, Близнюк У.А., Борщеговская П.Ю., Варзарь С.М., Еланский С.Н., Ишханов Б.С., **Литвинов Ю.Ю.**, Матвейчук И.В., Николаева А.А., Розанов В.В., Студеникин Ф.Р., Черняев А.П., Шведун В.И., Юров Д.С. Применение пучков ускоренных электронов для радиационной обработки продуктов питания и биоматериалов // Известия Российской академии наук. Серия физическая. 2017. Т. 81. № 6. С. 819-823.

2. Комбинированный способ стерилизации костных имплантатов: патент на изобретение № 2630464 Рос. Федерация: МПК ⁵¹ А61L 2/08, А61L 2/16, А61L 101/10, А61L 2/28 /И.В. Матвейчук, В.В. Розанов, И.К. Гордонова, З.К. Никитина, Н.И. Сидельников, **Ю.Ю. Литвинов**, А.А. Николаева, А.П. Черняев, И.В. Пантелеев; заявитель и патентообладатель ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений». - № 2016131336; заявл. 29.07.2016, опубл. 08.09.2017, Бюл. №25.

3. Лекишвили М.В, Матвейчук И.В., Розанов В.В., **Литвинов Ю.Ю.** Научно-методические основы оптимизации технологии изготовления костных имплантатов // Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии: Материалы VII Всероссийского симпозиума с межд. участием. Астрахань, 2017. С. 5-8.

4. **Литвинов Ю.Ю.** Получение костных имплантатов на основе стерильного деминерализованного костного матрикса с антимикробными свойствами // Современные аспекты травматологии, ортопедии и реконструктивной хирургии: Материалы научно-практической конференции с международным участием. Астрахань, 2019. С. 71 – 72.

5. **Литвинов Ю.Ю.**, Матвейчук И.В., Розанов В.В. Использование бесконтактного метода объективной регистрации состояния поверхностей биологических объектов с применением StereoSCAN 3D // Медико-технические

технологии на страже здоровья: Сборник научно-технической конференции «Медтех-2015». г. Крым, пос. Партенит. - М. 2015. С. 90 – 91.

6. **Литвинов Ю.Ю.**, И.В. Матвейчук, В.В. Розанов Инновационные подходы к объективной регистрации состояния поверхностей и объемов образцов растений и биологических тканей // Биологические особенности лекарственных и ароматических растений и их роль в медицине: Сборник научных трудов международной конференции. М, 2016. С. 395 – 399.

7. **Литвинов Ю.Ю.** Получение костных имплантатов и имплантационных препаратов с антимикробными свойствами на основе стерильного деминерализованного костного матрикса // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2019. Т 22. № 3. С. 21 – 29.

8. Матвейчук И.В., Розанов В.В., **Литвинов Ю.Ю.**, Андреева Т.М. Биотехнологические подходы к оптимизации качества имплантатов для костной пластики // В сборнике: Материалы 2-го Национального Конгресса по регенеративной медицине. М. 2015. С. 106.

9. Матвейчук И.В., Розанов В.В., **Литвинов Ю.Ю.**, Краснов В.В. Влияние озоновой и радиационной стерилизации на физико-механические характеристики костной ткани // Физика и радиоэлектроника в медицине и экологии: Материалы 13-й межд. научн. конф. Владимир-Суздаль. Книга 1. 2018. С. 315-316.

10. Матвейчук И.В., Розанов В.В., **Литвинов Ю.Ю.** Изучение биофизических свойств костной ткани для медико-биологических приложений // Альманах клинической медицины. 2016. Т 44. №2. С. 193 – 202.

11. Матвейчук И.В., Розанов В.В., Денисов-Никольский Ю.И., **Литвинов Ю.Ю.**, Поляков Н.А., Шутеев С.А., Астахов Ю.Ю. Методические основы комплексного изучения костной ткани для биоимплантологии // Морфология. М., 2014. №3. С. 126.

12. Матвейчук И.В., **Литвинов Ю.Ю.**, Розанов В.В. Научно-методические основы объективной регистрации состояния поверхностей биологических объектов с использованием инновационных методов // Морфология. 2016. Т 149. №3. С.134.

13. Поляков Н.А., Матвейчук И.В., Краснов В.В., **Литвинов Ю.Ю.**, Розанов В.В. Современные подходы к определению композиционного состава костной ткани

// Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии: Материалы VII Всероссийского симпозиума с межд. участием. Астрахань, 2017. С. 52-54.

14. Розанов В.В., Матвейчук И.В., **Литвинов Ю.Ю.**, Уланова А.А., Пантелеев И.В. Анализ архитектоники костной ткани как объекта стерилизации с использованием озона // Биорадикалы и антиоксиданты. М. 2016. Т 3. №3. С. 229 – 230.

15. Розанов В.В., Матвейчук И.В., **Литвинов Ю.Ю.**, Краснов В.В. Влияние радиационной стерилизации на физико-механические и биофизические характеристики костной ткани // Радиобиология: актуальные проблемы: В сборнике докладов по материалам международной научной конференции. Гомель, 2018. ГНУ «Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси». ISBN 978-985-506-969-1. С. 138-140.

16. Розанов В.В., Матвейчук И.В., Лекишвили М.В., **Литвинов Ю.Ю.**, Андреева Т.А., Николаева А.А. Инновационные подходы к стерилизации костных имплантатов // Технологии живых систем. М, 2015. Т.10. №4. С. 74-76.

17. Розанов В.В., Матвейчук И.В., **Литвинов Ю.Ю.**, Сидельников А.Н. Инновационные методы стерилизации образцов растительного и животного происхождения // Биологические особенности лекарственных и ароматических растений и их роль в медицине: В сборнике научных трудов международной конференции. М, 2016. С. 412 – 416.

18. Розанов В.В., Матвейчук И.В., Черняев А.П., Никитина З.К., Гордонова И.К., **Литвинов Ю.Ю.**, Лыкова Е.Н. Инновационное развитие радиационной технологии стерилизации костных имплантатов // Радиобиология: вызовы XXI века: Сборник докладов международной научной конференции. Гомель, 2017. ГНУ «Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси», ISBN 978-985-506-969-1. С. 155-157.

19. Розанов В.В., Матвейчук И.В., Черняев А.П., Пантелеев И.В., **Литвинов Ю.Ю.**, Краснов В.В. Инновационный подход к уменьшению дозовой нагрузки при радиационной стерилизации биоимплантатов // Физика и радиоэлектроника в медицине и экологии: Материалы 13-й межд. научной конференции. Владимир-Суздаль, 2018. Книга 1. С. 311-312.

20. Розанов В.В., Матвейчук И.В., Денисов-Никольский Ю.И., **Литвинов Ю.Ю.** Костная ткань как объект биотехнологических исследований и разработок // Технологии живых систем. М, 2016. Т 12. №1. С. 23 – 25.

21. Розанов В.В., Матвейчук И.В., Черняев А.П., Никитина З.К., Гордонова И.К, **Литвинов Ю.Ю.**, Лыкова Е.Н. Модернизация радиационных методов стерилизации биоимплантатов // Ядерная наука и технологии, посвященный 60-летию Института ядерной физики: В сборнике тезисов международного научного форума. Алматы, 2017. РГП «Институт ядерной физик». ISBN 978-601-06-4394-9. С. 383.

22. Способ изготовления костных имплантатов: патент на изобретение № 2526429 Рос. Федерация: МПК ⁵¹ А 61 F 2/00/ В.А. Быков, В.В. Розанов, И.В. Матвейчук, В.И. Пантелеев, С.А. Шутеев, **Ю.Ю. Литвинов**, А.И. Воротников; заявитель и патентообладатель ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений». - №2013116468/14; заявл. 11.04.2013; опубл. 20.08.2014, Бюл. №23.

23. Способ получения костного имплантата на основе стерильного деминерализованного костного матрикса: патента на изобретение № 2769121 Рос. Федерация: МПК ⁵¹ А61F 2/28, А61K 35/32, А61L 2/08, А61L 2/16, А61L 101/10, А01N 1/00 / **Ю.Ю. Литвинов**, В.А. Быков, Н.И. Сидельников, И.В. Матвейчук, В.В. Розанов, В.В. Краснов; заявитель и патентообладатель ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений». – № 2018141307; заявл. 23.11.2018, опубл. 06.02.2019, Бюл. №4.

24. Alimov A. S., Bliznyuk U. A., Borchegovskaya P. U., Varzar S. M., Elansky S. N., Ishkhanov B. S., **Litvinov U. U.**, Matveychuk I. V., Nikolaeva A. A., Rozanov V. V., Studenikin F. R., Chernyaev A. P., Shvedunov V. I., Yurov D. S. Using accelerated electron beams for the radiation processing of foodstuffs and biomaterials // Bulletin of the Russian Academy of Sciences: Physics. M, 2017. Volume 81. Issue 6. P. 743–747.

25. Rozanov V.V., Matveichuk I.V., **Litvinov Yu.Yu.**, Ulanova A.A., Panteleev I.V. An analysis of the architectonics of bone tissue as the object of ozone sterilization // Revista Española de Ozonoterapia, 2016. V. 2. № 2. С. 62.