

DOI: 10.15825/1995-1191-2022-1-56-63

ИНДУКЦИЯ ОСТЕОГЕНЕЗА КОСТНОЙ ТКАНИ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ КРОЛИКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КРИОГЕННО-СТРУКТУРИРОВАННОГО ГУБЧАТОГО АЛЬБУМИНОВОГО 3D-НОСИТЕЛЯ, НАГРУЖЕННОГО БИОРЕГУЛЯТОРОМ

А.И. Шайхалиев¹, М.С. Краснов², Е.В. Сидорский², В.П. Ямскова³, В.И. Лозинский²

¹ ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Российская Федерация

² ФГБУН «Институт элементоорганических соединений имени А.Н. Несмеянова Российской академии наук», Москва, Российская Федерация

³ Институт проблем биорегуляции, Москва, Российская Федерация

Цель работы: изучить *in vivo* на модели экспериментального костного дефекта нижней челюсти кролика индукцию остеогенеза, вызываемую внесением в область дефекта широкопористых криогенно-структурированных 3D-носителей на основе сывороточного альбумина, нагруженных биорегулятором, выделенным из сыворотки крови крупного рогатого скота. **Материалы и методы.** В качестве носителя биорегулятора использовали криогенно-структурированные губки в виде цилиндрических образцов диаметром 5 мм и высотой также 5 мм, приготовленные из бычьего сывороточного альбумина. Эксперименты с лабораторными животными проводили на кроликах породы Шиншилла весом 2–2,5 кг, самцах. Под наркозом (внутримышечный наркоз Zoletil 100) разрезом до 3 см в области угла нижней челюсти скелетировали костную ткань и фрезой диаметром 5 мм создавали дефект глубиной 2–3 мм для установки альбуминовой губки соответствующего размера. Всего в эксперименте присутствовало 24 животных. Проводили рентгенологический контроль области дефекта на 14-е сутки прижизненно на аппарате PanExam+ (Kavo), 20 мРентген. Гистологическое исследование тканей проводили на 30-е сутки после нанесения дефекта с использованием светового микроскопа. **Результаты.** Результаты проведенных экспериментов свидетельствуют об активном восстановлении костной ткани в области обширного дефекта при использовании альбуминового 3D-носителя именно с включением биорегулятора по сравнению с контрольными опытами. Зарегистрированы процессы остеоинтегративной и остеоиндуктивной активности, практически полное разложение (биodeградация) альбуминовой губки с формированием на месте дефекта островков плотной костной ткани с небольшими очагами грубоволокнистой ткани, что говорит о хорошей динамике восстановительных процессов на данном сроке заживления. **Заключение.** Полученные данные указывают на то, что под действием сывороточного биорегулятора в составе альбуминовой губки процесс репарации приводит к восстановлению нормальной костной ткани без формирования костной мозоли и измененной костной ткани, отличной от нативной ткани.

Ключевые слова: остеоиндукция, 3D-технологии, криогели, биорегуляторы.

Для корреспонденции: Краснов Михаил Сергеевич. Адрес: 119991, Москва, ул. Вавилова, 28. Тел. (916) 492-17-97. E-mail: embrmsk@mail.ru

Corresponding author: Mikhail Krasnov. Address: 28, Vavilova str., Moscow, 119991, Russian Federation. Phone: (916) 492-17-97. E-mail: embrmsk@mail.ru

INDUCTION OF OSTEOGENESIS IN RABBIT MANDIBULAR BONE TISSUE USING AN ALBUMIN-BASED CRYOGENICALLY STRUCTURED POROUS 3D CARRIER LOADED WITH A BIOREGULATOR

A.I. Shaikhaliev¹, M.S. Krasnov², E.V. Sidorsky², V.P. Yamskova³, V.I. Lozinsky²

¹ Sechenov University, Moscow, Russian Federation

² Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds, Moscow, Russian Federation

³ Institute of Bioregulation Problem, Moscow, Russian Federation

Objective: to study the induction of osteogenesis caused by introducing into the defect area broadly porous cryogenically structured 3D carriers, based on serum albumin and loaded with a bioregulator isolated from bovine serum on an experimental model of mandible defect in rabbits *in vivo*. **Materials and methods.** Cryogenically structured sponges in the form of cylindrical specimens, 5 mm in diameter and 5 mm in height, prepared from bovine serum albumin, were used as the bioregulator carrier. The experimental laboratory animals were male Chinchilla rabbits, weighing 2–2.5 kg. Bone tissue was skeletonized under anesthesia (intramuscular anesthetic Zoletil 100) with a 3-cm incision in the angle of the mandible and a 5-mm-diameter cutter was used to create a 2–3-mm deep defect to install an appropriate-size albumin sponge. A total of 24 animals participated in the experiment. X-ray control of the defect area was performed *in vivo* on day 14 using PanExam+ (Kavo) device (20 m X-ray). Histological examination of tissues was carried out at day 30 after the defect using a light microscope. **Results.** Experiments performed indicate an active restoration of bone tissue in the extensive defect area when using an albumin-based 3D carrier with the inclusion of a bioregulator as compared to the control experiments. There were osteointegrative and osteoinductive processes, almost complete decomposition (biodegradation) of albumin sponge with formation of islands of dense bone tissue with small foci of coarse fibrous tissue in the defect. This demonstrated good dynamics of recovery processes at this stage of healing. **Conclusion.** Under the action of a serum bioregulator contained in an albumin-based sponge, the repair process leads to restoration of normal bone tissue without formation of bone callus and altered bone tissue different from the native one.

Key words: osteoinduction, 3D technology, cryogels, bioregulators.

ВВЕДЕНИЕ

В челюстно-лицевой хирургии актуальна проблема восстановления дефектов костей с использованием специальных имплантационных материалов или композиций. Причем важно, какие именно материалы и с каким наполнением используются для замещения и восстановления костной ткани при различных патологических процессах. В частности, применяются методы с замещением костных дефектов с помощью ауто- и аллотрансплантатов, а также искусственных костей как декальцинированных, так и децеллюляризованных. Однако не всегда доступен собственный костный материал, особенно при больших дефектах, а при использовании аллотрансплантатов и искусственных материалов возможны осложнения, включая отторжение. В настоящее время пока еще нет имплантационных материалов и конструкций из них, которые бы в полной мере удовлетворяли всем предъявляемым требованиям. В связи с этим разработку новых материалов для имплантатов, а также средств и методов, повышающих их эффективность, следует признать весьма актуальной [1]. При этом интерес представляют имплантаты как собственно

костного происхождения, подвергнутые необходимой предварительной обработке [2], так и имплантаты, сформированные на основе подходящих для этой цели биополимерных предшественников [3, 4].

Кости, имеющие мембранозное происхождение, такие как кости черепа, обеспечивают лучшее приживление в области дефектов челюстно-лицевой области [5]. Пористые ткани, такие как губчатая кость, можно использовать для более быстрого прорастания в них кровеносных сосудов и ускорения процессов оссификации [6]. Также интересны трансплантаты из декальцинированного костного матрикса, поскольку показано, что именно деминерализированная кость способствует процессам остеоиндукции [7, 8].

Ранее нами было проведено исследование влияния биорегулятора сыворотки крови в составе криогенно-структурированных губчатых носителей (так называемых *криогелей* и *криоструктуратов* [9]) на восстановление дефектов бедренной кости у крыс Wistar на разных сроках (7, 14, 30, 90 дней). При этом показано, что в процессе ранозаживления происходит эффективное восстановление плотной костной ткани начиная с ранних сроков, приводя к стимуляции

остеогенеза с полным восстановлением к поздним срокам и с формированием плотной костной ткани в области экспериментального дефекта [10, 11]. Наилучшие результаты в этих опытах были достигнуты при использовании альбуминовых криогелей [12] в качестве носителей сывороточного биорегулятора [11]. Также сообщалось о применении для лечения костных дефектов криогелей на основе и других белков [13]. Так, в случае криогеля, сформированного из коллагена, наполненного наночастицами гидроксиапатита, была показана безопасность, биоразлагаемость и вызываемая этим материалом остеоинтеграция при длительном периоде (15 недель) *in vivo* [14].

Учитывая положительные результаты указанных выше экспериментов о позитивном влиянии сывороточного биорегулятора, включенного в альбуминовый криогель, на регенеративный процесс в случае модели заживления дефекта бедренной кости крысы, мы планировали изучить восстановление костей нижней челюсти кролика, поскольку имеются значимые отличия трубчатых костей от кости челюсти. Кость челюсти имеет пластинчатое строение, в верхней челюсти много губчатой костной ткани и более тонкая кортикальная пластина плотной ткани, нижняя челюсть имеет более плотную кортикальную пластину [15]. Поэтому кости челюсти, так же как и кости черепа, хуже поддаются восстановлению после повреждения. Ожидалось, что использование адсорбированной на белковом носителе формы биорегулятора в качестве транспортного кондуктора приведет к ускорению процесса стимуляции остеогенеза как фактора, направленного на восстановление искусственно созданного дефекта костной ткани челюсти.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали криогенно-структурированные губчатые носители в виде цилиндрических образцов диаметром 5 мм и высотой также 5 мм, приготовленные из бычьего сывороточного альбумина согласно ранее опубликованной методике [12]. Далее полученные губчатые носители инкубировали в водном растворе биорегулятора, замораживали и высушивали лиофильно. Контрольные образцы – альбуминовые носители, не содержащие биорегулятор, также высушенные лиофильно.

Биорегулятор выделяли из сыворотки крови крупного рогатого скота (коммерческий препарат, используемый в виде питательной добавки к культуральным средам, БиоЛот), по методике, включающей высаливание белков серноокислым аммонием, диализ, концентрирование и далее изоэлектрофокусирование в градиенте плотности сахарозы при pH 3–10 [16]. Высокая степень очистки биорегулятора была показана электрофорезом в ПААГ и обращенно-фазовой ВЭЖХ. В данной работе использовали коммерче-

ский препарат марки «Виоргон 1», производитель ООО «ИПБ».

Эксперименты с лабораторными животными проводили на кроликах породы Шиншилла весом 2–2,5 кг, самцах. Под наркозом (внутримышечный наркоз Zoletil 100) разрезом до 3 см в области угла нижней челюсти скелетировали костную ткань и фрезой диаметром 5 мм создавали дефект глубиной 2–3 мм для установки альбуминовой губки соответствующего размера. В образовавшиеся дефекты помещали исследуемые материалы – 3D-носители, содержащие и не содержащие биорегулятор из сыворотки крови. После заполнения дефектов зашивали мягкие ткани и кожу. Животные содержались в стандартных условиях вивария. Ушивание раны производили послойно после обработки 3% раствором перекиси водорода. Рана послойно ушита узловыми швами с полным укрыванием имплантата. Гемостаз произведен по ходу операции. Кожная рана ушита узловыми швами полигликолид 4/0. Каждому кролику устанавливали по одному испытуемому образцу альбуминовой губки, либо не содержащей в своем составе биорегулятор из сыворотки крови, либо содержащей в своем составе биорегулятор сыворотки крови. В отрицательном контроле в область дефекта ничего не вставляли и ушивали рану. Были сформированы следующие группы по 6 кроликов в каждой:

1. Нативный контроль – кролики без дефекта.
2. Отрицательный контроль – в область дефекта не вставляли альбуминовые губки.
3. Контрольная группа – в область дефекта вставляли альбуминовые губки без сывороточного биорегулятора.
4. Опытная группа 1 – в область дефекта вставляли альбуминовые губки, содержащие сывороточный биорегулятор в конечной концентрации 10^{-10} мг/мл.

Всего в эксперименте присутствовало 24 животных.

Проводили рентгенологический контроль области дефекта на 14-е сутки прижизненно на аппарате PanExam+ (Kavo), 20 мРентген.

Мы оценивали состояние костной ткани на рентгенограммах по трехбалльной системе.

1 балл – полное отсутствие элементов остеоидной ткани; дефект костной ткани определяется рентгенологически как тень и зона дефекта, больше заполненные фиброзной соединительной тканью.

2 балла – зона дефекта на 30–40% заполнена островками остеоидной ткани и частично грубоволокнистой соединительной тканью, которая предположительно должна реструктуризоваться в молодую костную ткань с трабекулярным строением.

3 балла – в зоне дефекта плотность костной ткани практически выравнивалась с плотностью материнской ткани; на фоне активного роста нормально

структурированной костной ткани наблюдаются небольшие островки соединительной ткани, но в целом сложно определить зону дефекта.

Состояние дефектов кости изучали на 14-е сутки с помощью рентгена, поскольку именно на ранних сроках происходят основные процессы регенерации, которые в дальнейшем определяют качество сформированной в области дефекта костной ткани. На 30-й день после операции животных выводили из эксперимента, костный материал извлекали из области дефекта, фиксировали в формалине, декальцинировали, заключали в парафин для приготовления гистологических срезов толщиной 10 мкм. Окраску гистологических срезов производили гематоксилином-эозином и изучали их с помощью световой микроскопии.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как указано во введении данной статьи, основной задачей этого исследования являлась проверка возможности индукции остеогенеза, вызываемого действием сывороточного биорегулятора в зоне искусственного дефекта костной ткани нижней челюс-

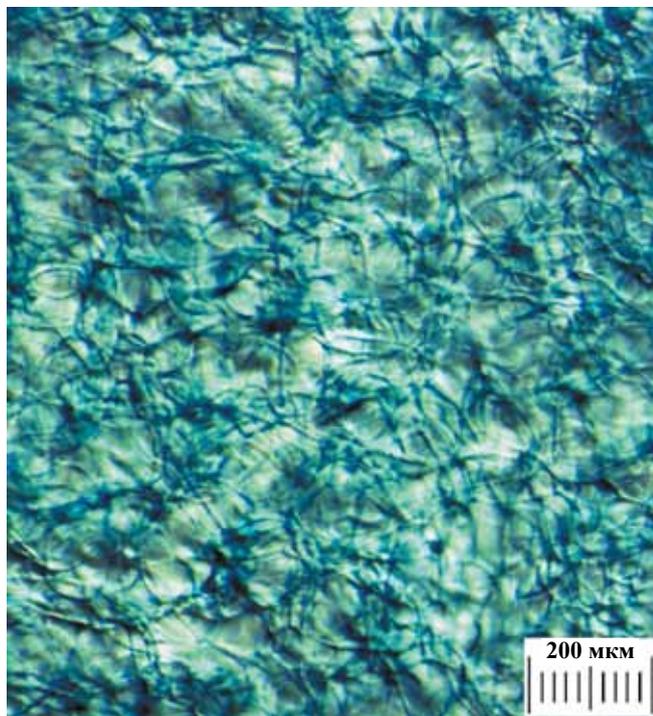


Рис. 1. Микроструктура альбуминового криогеля, контрастированного 0,125 мМ водным раствором метиленового синего (оптический стереомикроскоп SMZ1000 (Nikon, Япония), снабженный цифровой системой MMC-50C-M (MMCSoft, РФ) для записи изображений)

Fig. 1. Microstructure of serum-albumin-based cryogel contrasted with 0.125 mM aqueous methylene blue solution (optical stereomicroscope SMZ1000 (Nikon, Japan), equipped with digital system MMC-50C-M (MMCSoft, Russia) for image recording)

ти кролика, когда такой биорегулятор вводился туда адсорбированным на криогенно-структурированном губчатом криогеле, приготовленном из денатурированного сывороточного альбумина. Образование указанного макропористого носителя базируется на ранее обнаруженном эффекте протекания процессов сшивки дисульфидными мостиками полипептидных цепей сывороточного альбумина за счет реакций межмолекулярного тиол-дисульфидного обмена в результате введения денатуранта (в частности, мочевины или гуанидин гидрохлорида) и небольшого количества восстановителя (например, цистеина) в исходный раствор белка с последующим его замораживанием, выдерживанием в замороженном состоянии и дальнейшим оттаиванием [12, 17]. Эта последовательность операций приводит к формированию губчатого белкового криогеля (рис. 1), в случае необходимости конкретного применения, легко разрушаемого протеазами [18]. Именно такой альбуминовый носитель был использован в данной работе для введения адсорбированного им сывороточного биорегулятора в организм лабораторных животных.

На ранних сроках после нанесения дефекта (14 суток) исследовали *in vivo* состояние костной ткани с помощью рентгена.

В отрицательном контроле на нижней челюсти определяется зона дефекта без четких контуров, есть тенденция к заполнению сформированного дефекта. В центре определяются островки плотного вещества, скорее всего, зоны формирования костной массы (1,5–2 балла по вышеописанной шкале). В зоне дефекта по периферии по направлению центра дефекта от края костной ткани структурно появляются островки костного вещества, имеющие более дифференцированный характер. На рентгенограммах наблюдается располагающаяся недалеко от края дефекта рыхлая соединительная ткань, которая состоит из сплетенных пучков коллагеновых фибрилл (рис. 2).

В контроле с губкой дефекты заполнены соединительной тканью (грубоволокнистая коллагеновая ткань). В некоторых зонах ближе к краю материнской кости определяются островки напластывания нового костного вещества (1 балл по вышеописанной шкале) (рис. 3).

В опытной группе с включением в альбуминовую губку сывороточного биорегулятора в зоне дефекта определяется экзофитный рост новообразованной костной ткани, имеющий трабекулярное строение, перемежающийся с фиброзным матриксом. Очаги остеогенеза наблюдаются в виде отложения остеоида в соединительно-тканной прослойке (2,5–3 балла по вышеописанной шкале) (рис. 4).

При гистологическом описании состояния костной ткани в области дефекта на 30-е сутки после его

нанесения в различных группах получили следующую картину.

Контроль нативный. Плотная костная ткань, внутри полостей костных балок виден костный мозг

(в основном желтый – жировая ткань, но также представлен красный костный мозг). Хорошо выражены элементы зубов с дентином, эмалью и незрелыми мезенхимными клетками. Хорошо выражена плотная



Рис. 2. Рентгенограмма нижней челюсти кролика в области дефекта (указано стрелкой) на 14-е сутки в контрольной группе: а – малое увеличение; б – большое увеличение

Fig. 2. X-ray of the rabbit mandible in the defect area (indicated by arrow) on day 14 in the control group: a – low magnification; б – high magnification



Рис. 3. Рентгенограмма нижней челюсти кролика в области дефекта (указано стрелкой) на 14-е сутки в группе с альбуминовой губкой

Fig. 3. X-ray of the rabbit mandible in the defect area (indicated by arrow) on day 14 in the albumin sponge group



Рис. 4. Рентгенограмма нижней челюсти кролика в области дефекта (указано стрелкой) на 14-е сутки в группе с альбуминовой губкой, содержащей сывороточный биорегулятор

Fig. 4. X-ray of the rabbit mandible in the defect area (indicated by arrow) on day 14 in the group with albumin sponge, containing serum bioregulator

костная ткань, есть сосуды, которые просматриваются. Остеоны хорошо выражены, между остеоцитами небольшие лакуны. Ядра остеоцитов крупные, овальной формы. Представлена зрелая остеοидная кость, пластинчатого строения (рис. 5, а).

В группе отрицательного контроля (без заполнения области дефекта какими-либо материалами) не происходит полного зарастания дефекта. Полость раны заполнена тканевым детритом, между ним идет формирование новой кости, не выражен костный мозг. Наблюдается незрелая остеοидная ткань, лакуны не выражены. Волокнистая костная ткань, сосуды плохо представлены (рис. 5, б).

В контрольной группе с заполнением дефекта альбуминовой губкой, не содержащей сывороточный биорегулятор, идет зарастание раны без формирования костного мозга. Видно активное формирование костной ткани, остеοинтеграция альбуминовой губки в состав кости, образование в ней полостей и частичное заселение клетками. А также

на границе активная грануляция клеток с формированием незрелой остеοидной ткани (рис. 5, в).

В опытной группе с заполнением дефекта альбуминовой губкой, содержащей сывороточный биорегулятор, в области повреждения видны остатки разлагающейся альбуминовой губки, вновь образованная кость плотная, с маленькими лакунами. Внутри в полости кости виден костный мозг. Идет формирование плотной зрелой остеοидной ткани с формированием остеонов и гаверсовых каналов и костного мозга. Идет восстановление костной альвеолярной ткани и восстановление пластинчатой плотной кости (рис. 5, г).

Любая соединительная ткань является предшественником костной ткани. Она необходима для роста интеграционных процессов и заполнения дефектов костной тканью. В группе отрицательного контроля с альбуминовой губкой без биорегулятора мы наблюдали начало процесса восстановления костной ткани с формированием незрелой кости, в отличие от груп-

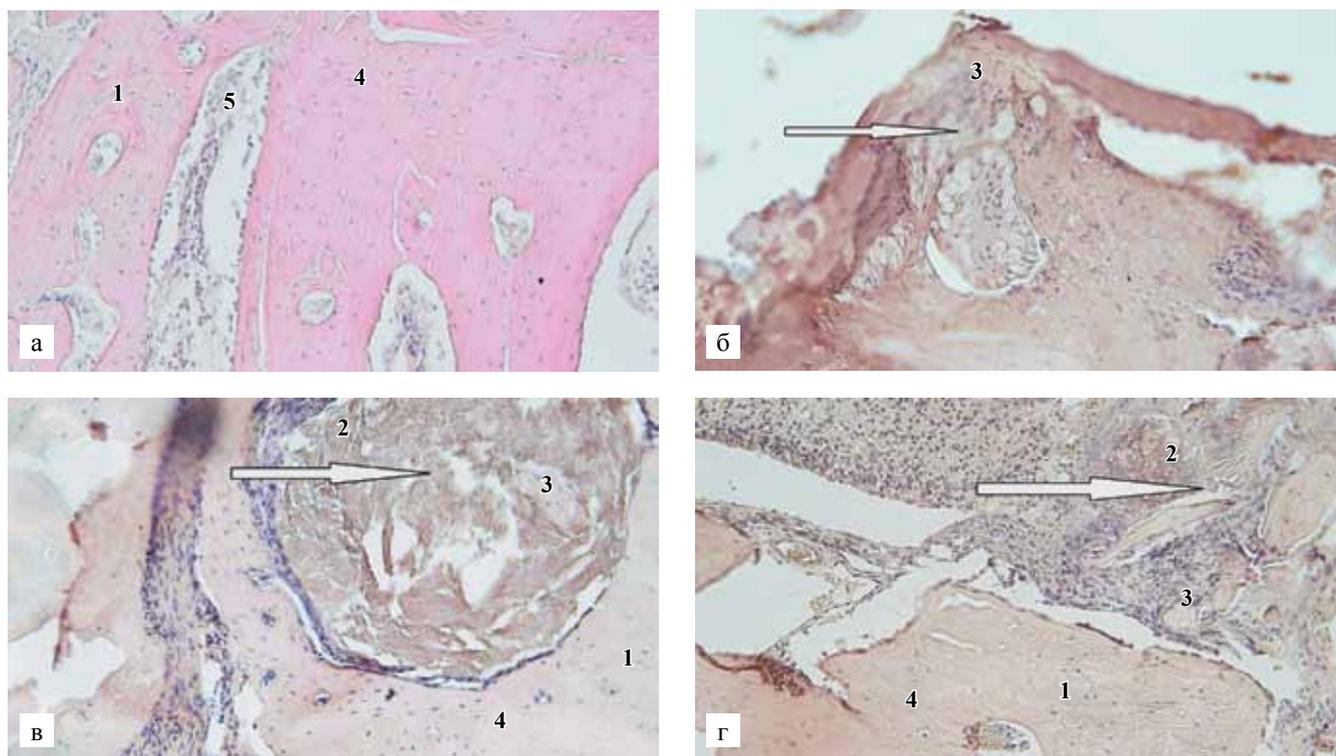


Рис. 5. Костная ткань нижней челюсти кролика: а – нативная; б – через 30 суток после нанесения дефекта (негативный контроль, без внесения в область дефекта каких-либо материалов); в – через 30 суток после нанесения дефекта (контроль, с внесением в область дефекта альбуминовой губки, не содержащей сывороточный биорегулятор); г – через 30 суток после нанесения дефекта (опытная группа, с внесением в область дефекта альбуминовой губки, содержащей сывороточный биорегулятор). 1 – остеоны; 2 – остатки альбуминовой губки; 3 – незрелая остеοидная ткань; 4 – плотная костная ткань; 5 – костный мозг. $\times 200$. Стрелкой указана область дефекта

Fig. 5. Bone tissue of rabbit mandible: а – native; б – 30 days after application of defect (negative control, without introduction of any materials into the defect area); в – 30 days after application of defect (control, with introduction of albumin sponge, containing no serum bioregulator, into the defect area); г – 30 days after application of the defect (experimental group, with introduction of albumin sponge, containing serum bioregulator, into the defect area). 1 – osteons; 2 – remains of albumin sponge; 3 – immature osteoid tissue; 4 – dense bone tissue; 5 – bone marrow. $\times 200$ magnification. The arrow indicates the defect area

пы, в которой в область дефекта была внесена альбуминовая губка с включенным в нее биорегулятором из сыворотки крови. Таким образом, альбуминовая губка является носителем, который необходим для заселения в нее вновь образующихся клеток в качестве остеокондуктора, а остеоиндуктором, ускоряющим процесс восстановления зрелой костной ткани, является сывороточный биорегулятор, включенный в нее.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В отрицательном контроле картина восстановления плотной костной ткани нижней челюсти кролика не выражена, в основном восстановленная ткань является грубоволокнистой. В контрольной группе с альбуминовой губкой видно неполное разложение данной губки и только начало остеointegrативных процессов. Полученные результаты свидетельствуют об активном восстановлении костной ткани в области обширного дефекта при использовании 3D-носителя на основе бычьего сывороточного альбумина (альбуминовой губки), с включением биорегулятора, выделенного из сыворотки крови. Видны процессы остеointegrативной и остеиндуктивной активности, практически полное разложение альбуминовой губки в области дефекта, с формированием на месте дефекта островков плотной костной ткани с небольшими очагами грубоволокнистой ткани, что говорит о хорошей динамике восстановительных процессов на данном сроке заживления дефекта. Это может свидетельствовать о том, что под действием сывороточного биорегулятора в составе альбуминовой губки процесс репарации приводит к восстановлению нормальной костной ткани без формирования костной мозоли и измененной костной ткани, отличной от нативной.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Гунько ВИ. Значение костно-реконструктивных операций при медицинской реабилитации с врожденными деформациями челюстей. *Актуальные вопросы стоматологии*. М., 2000: 117. Gunko VI. Znachenie kostno-rekonstruktivnyh operacij pri medicinskoj rehabilitacii s vrozhdennymi deformacijami chelyustey. *Aktualnye voprosy stomatologii*. М., 2000: 117.
2. Миньков СА, Шкитов ЮС, Сакович ГН, Казимирский ВА. Клинический опыт отсроченной имплантации нижней челюсти во время ее резекции. *Актуальные проблемы стоматологии*. М., 2000: 126. Min'kov SA, Shkitov YuS, Sakovich GN, Kazimirskiy VA. Klinicheskij opyt otsrochennoj implantacii nizhnej cheljusti vo vremya ejo rezekcii. *Aktualnye problemy stomatologii*. М., 2000: 126.
3. Baker EJ, Onissem-Karimu S, Rivera-Galletti A, Francis M, Wilkowski J, Salas-de-la-Cruz D, Hu X. Protein-polysaccharide composite materials: fabrication and applications. *Polymers*. 2020; 12 (2): 464. doi: 10.3390/polym12020464.
4. Mbundi L, Gonzalez-Perez M, Gonzalez-Perez F, Juanes-Gusano D, Rodriguez-Cabello JC. Trends in the development of tailored elastin-like recombinamer-based porous biomaterials for soft and hard tissue applications. *Frontiers in Materials*. 2021; 7 (1): 601795. doi: 10.3389/fmats.2020.601795.
5. Zins JE, Whitaker LA. Membranous versus endochondral bone: Implications for craniofacial surgery. *Plast reconstr Surg*. 1983; 72: 778.
6. Гаджиев АР. Ауто- и аллотрансплантация компактной и губчатой костной ткани при замещении дефекта нижней челюсти: Дис. ... канд. мед. наук. М., 1986. 214. Gadzhiev AP. Auto- i allotransplantaciya kompaktnoj i gubchatoj kostnoj tkani pri zameshhenii defekta nizhnej chelyusti [Dissertation]. М., 1986. 214.
7. Полежаев ЛВ. Регенерация путем индукции. *Журнал общей биологии*. 1966; 27 (2): 223–233. Polezhaev LV. Regeneraciya putyom indukcii. *Zhurnal obschey biologii*. 1966; 27 (2): 223–233.
8. Sampath TK, Reddi AH. Dissociative extraction and reconstitution matrix components involved in local bone differentiation. *Cell Biology*. 1981; 78 (12): 7599–7603.
9. Lozinsky VI. Cryostructuring of polymer systems. 50. Cryogels and cryotropic gel-formation: terms and definitions. *Gels*. 2018; 4 (3): 77. doi: 10.3390/gels4030077.
10. Краснов МС, Шайхалиев АИ, Коршаков ЕВ, Ефименко МВ, Солошенко ПП, Давыдова ТР и др. Индукция остеогенеза костной ткани крысы с использованием криогенно-структурированных пористых 3D-материалов с содержанием биорегулятора. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2019; 168 (7): 113–117. Krasnov MS, Shayhaliev AI, Korshakov EV, Efimenko MV, Soloshenkov PP, Davydova TR et al. Induction of osteogenesis of rat bone tissue using cryogenically structured porous 3D materials containing a bioregulator. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2019; 168 (7): 113–117. doi: 10.1007/s10517-019-04657-z.
11. Краснов МС, Шайхалиев АИ, Коршаков ЕВ, Гасбанов ГА, Корголов РС, Синицкая ЕС и др. Изменение состояния костной ткани крысы в зоне дефекта *in vivo* под действием криогенно-структурированной альбуминовой губки, содержащей биорегулятор. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2020; 170 (12): 800–804. Krasnov MS, Shaikhaliev AI, Korshakov EV, Gasbanov GA, Korgoloev RS, Sinitskaya ES et al. Changes in rat bone tissue at the site of the defect *in vivo* under the effect of a cryogenically structured albumin sponge containing a bioregulator. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2021; 170 (12): 805–808. doi: 10.1007/s10517-021-05160-0.
12. Rodionov IA, Grinberg NV, Burova TV, Grinberg VYa, Lozinsky VI. Cryostructuring of polymeric systems. 40.

- Proteinaceous wide-pore cryogels generated by the action of denaturant/reductant mixtures on bovine serum albumin in moderately-frozen aqueous media. *Soft Matter*. 2015; 11 (24): 4921–4931. doi: 10.1039/c4sm02814g.
13. He Y, Wang C, Xiao Y, Lin W. An overview on collagen and gelatin-based cryogels: fabrication, classification, properties and biomedical applications. *Polymers*. 2021; 13 (14): 2299. doi: 10.3390/polym13142299.
 14. Vilela MJC, Colaço BJA, Ventura J, Monteiro FJM, Salgado CL. Translational research for orthopedic bone graft development. *Materials*. 2021; 14: 4130. doi: 10.3390/ma14154130.
 15. Павлова ИА, Виноградова АВ, Сергеева НД, Спасич ТА. Анатомия, физиология челюстно-лицевой области в возрастном аспекте: методическое пособие. Иркутск: Н ЦРВХ СО РАМН, 2014. 59. Pavlova IA, Vinogradova AV, Sergeeva ND, Spasich TA. Anatomiya, fiziologiya chelyustno-licevoj oblasti v vozrastnom aspekte: metodicheskoe posobie. Irkutsk: N CRVH SO RAMN, 2014. 59.
 16. Ямскова ВП, Краснов МС, Ямсков ИА. Новые экспериментальные и теоретические аспекты в биорегуляции. Механизм действия мембранотропных гомеостатических тканеспецифических биорегуляторов. Saarbrücken: Lambert Academic Publishing, 2012. 136. Yamskova VP, Krasnov MS, Yamskov IA. Mehanizm deystviya membranotropnyh gomeostaticeskikh tkane-specificeskikh bioregulyatorov. Saarbrücken: Lambert Academic Publishing, 2012. 136.
 17. Лозинский ВИ, Константинова НР, Соловьева НИ. Способ получения пористого белкового геля. Патент РФ № 2058083. (1994). Lozinsky VI, Konstantinova NR, Solov'eva NI. Method for the preparation of porous protein gel. Russ. Pat. No. 2,058,083 (1994).
 18. Lozinsky VI, Shchekoltsova AO, Sinitzkaya ES, Vernaya OI, Nuzhdina AV, Bakeeva IV et al. Influence of succinylation of a wide-pore albumin cryogels on their properties, structure, biodegradability, and release dynamics of dioxidine loaded in such spongy carriers. *Int J Biol Macromol*. 2020; 160 (1): 583–592. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.05.251.
- Статья поступила в редакцию 1.11.2021 г.
The article was submitted to the journal on 1.11.2021*