Карагандинский медицинский университет

УДК 616.71-089.843:615.462:57.084-07 На правах рукописи

КОСИЛОВА ЕКАТЕРИНА ЮРЬЕВНА

Оценка взаимодействия биокомпозита из наноцеллюлозы с дигидратом дикальций фосфатом на костную ткань in vivo

8D10100 – Медицина

Диссертация на соискание степени
доктора философии (PhD)

Научные консультанты:
Заведующий кафедры травматологии и нейрохирургии НАО «Карагандинского медицинского университета»,
доктор медицинских наук
Тулеубаев Берик Еркебуланович
заведующий патологоанатомическим блоком клиники НАО «Карагандинского медицинского университета», PhD
Камышанский Евгений Константинович
заведующий кафедрой физической и коллоидной химии, профессор, Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский государственный университет нефти и газа (национальный исследовательский университет) имени И.М. Губкина» г. Москва
Винокуров Владимир Арнольдович.

Республика Казахстан
Караганда, 2026

СОДЕРЖАНИЕ

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ …… 3
ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ …….. 4
ВВЕДЕНИЕ ……..…… 5
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ …….... 12
1.1 Современные подходы к восполнению дефектов костной ткани в травматологии и ортопедии…….. 13
1.2 Современный взгляд на применение биокомпозитов для лечения дефектов костной ткани…….……..... 14
1.3 Биокомпозиты на основе наноцеллюлозы и кальций-фосфатныех групп в регенерации костной ткани.……... 15
1.4 Наноцеллюлоза как каркасный материал для создания костнозамещающих биокомпозитов …….. 17
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ……... 20
2.1 Дизайн экспериментального исследования…..……..... 20
2.2 Заготовка наноцеллюлозы и приготовление биокомпозита на ее основе.…….. 21
2.3 Хирургические процедуры ……. 25
2.4 Гистологическое и морфометрическое исследование ……. 29
2.5 Статистический анализ…….....…… 32
3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ…….……..……. 33
3.1 Гистологическая и гистоморфометрическая оценка репаративной регенерации костного дефекта кортикальной пластинки, ремоделирования интрамедуллярного пространства и резорбции композита …….. 33
3.1.1 Оценка тканевого состава в зоне дефекта кортикальной пластинки……. 33
3.1.2 Оценка ремоделирования/резорбции композита и тканевого состава интрамедуллярного пространства …… 54
3.2 Оценка рентгенологических изменений при применении биокомпозита для заполнения костных дефектов в исследуемых группах в сравнении с аутологичным сгустком крови…….…… 63
4 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ …….. 69
ЗАКЛЮЧЕНИЕ …… 74
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ …….. 76
ПРИЛОЖЕНИЕ А - Сертификат за лучший постерный доклад на 25-м юбилейном конгрессе EFORT (25th EFORT Annual Congress)……..... 88
ПРИЛОЖЕНИЕ Б - Свидетельство о внесении сведений в государственный реестр прав на объекты, охраняемые авторским правом № 54701 от «17» февраля 2025 года ……..….. 89
ПРИЛОЖЕНИЕ В - Свидетельство о внесении сведений в государственный реестр прав на объекты, охраняемые авторским правом № 40436 от «14» ноября 2023 года …….. 90
ПРИЛОЖЕНИЕ Г – Акты внедрения …….……. 92

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящей диссертации использованы ссылки на следующие стандарты:

Закон Республики Казахстан «О науке и технологической политике» от 01.07.2024 г. №103-VIII ЗРК.

Приказ Министра здравоохранения Республики Казахстан «Об утверждении правил проведения клинических исследований лекарственных средств и медицинских изделий, клинико-лабораторных испытаний медицинских изделий для диагностики вне живого организма (in vitro) и требований к клиническим базам и оказания государственной услуги «Выдача разрешения на проведение интервенционного клинического исследования фармакологического или лекарственного средства, медицинского изделия»» от 11 декабря 2020 года № ҚР ДСМ-248/2020

Приказ Министра науки и высшего образования Республики Казахстан «Об утверждении государственных общеобязательных стандартов высшего и послевузовского образования» от 20 июля 2022 года.

ГОСТ 7.32-2017. Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Отчет о научно-исследовательской работе. Структура и правила оформления.

ГОСТ 7.1-2003. Библиографическая запись. Библиографическое описание. Общие требования и правила составления.

ГОСТ 7.1-2003. Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Библиографическое описание документа. Общие требования и правила составления.

Правила присуждения ученых степеней, утвержденные приказом МОН РК от 31 марта 2011 года № 127.

Заключение этической комиссии КГМУ № 4 от 25.09.2017 года. Присвоенный номер 13.

Методические рекомендации к оформлению диссертации на соискание степени доктора философии (PhD), доктора по профилю.

Требования к оформлению диссертаций протокол №8 от 24.03.2016.

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

НФЦ – биокомпозит на основе нановолокнистой целлюлозы, модифицированной дигидратом дикальцийфосфата, применяемый для замещения костных дефектов и стимуляции репаративного остеогенеза.

АСГ – аутологичный сгусток крови, используемый в качестве контрольного варианта заполнения костного дефекта.

ГЭ – гематоксилин и эозин; классический метод гистологического окрашивания для оценки морфологии тканей.

НФЦ-1 – вариант применения биокомпозита, при котором материал заполняет как дефект кортикальной пластинки, так и интрамедуллярное пространство.

НФЦ-2 – вариант применения биокомпозита, при котором материал вводится исключительно в интрамедуллярное пространство без выхода за пределы кортикальной пластинки.

$CaHPO_4 \cdot 2H_2O$ – дигидрат дикальцийфосфата (брушит), минеральный компонент биокомпозита, обладающий остеокондуктивными свойствами.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. Одной из актуальных задач в современной травматологии и ортопедии остается восполнение костных дефектов, возникающих вследствие травм, воспалительных заболеваний костной ткани, опухолевых процессов и других патологических состояний. В ряде случаев костный дефект настолько велик, что регенераторные способности организма оказываются недостаточными для полного восстановления утраченной ткани. В некоторых клинических состояниях требуется временное заполнение дефекта до стихания воспалительного процесса или получения окончательных гистологических данных для определения дальнейшей тактики лечения [1-3].

В решении данной проблемы особую роль играют новые материалы для трансплантации. Современные достижения в области химии, биологии и нанотехнологий привели к созданию множества инновационных биоматериалов, адаптированных для применения в медицине [4, 5]. Развитие нанотехнологий открыло новые горизонты в биомедицине, особенно в создании инновационных материалов для тканевой инженерии и регенеративной терапии. Одним из наиболее перспективных направлений является применение наноцеллюлозы, уникального биополимера, обладающего высокой механической прочностью, биосовместимостью и способностью к модификации [6-8]. Наноцеллюлоза активно исследуется как каркасный материал для восстановления дефектов костной ткани благодаря своей структурной схожести с внеклеточным матриксом. В современной научной практике актуальна задача поиска новых биоматериалов, которые были бы одновременно эффективными и безопасными для организма [9-11]. Особенно остро эта проблема стоит при лечении тяжёлых осложнений, таких как остеомиелит, часто сопровождающееся разрушением костных структур и необходимостью проведения многоэтапных реконструктивных операций. Пломбировка костного дефекта традиционными материалами в условиях активного инфекционного процесса становится невозможной из-за риска рецидива инфекции и образования биопленок. В условиях активного инфекционного процесса традиционные материалы, такие как полиметилметакрилат (PMMA), могут способствовать образованию биопленок, что затрудняет лечение инфекции [12,13]. Использование местных систем доставки антибиотиков, таких как биокомпозиты, может быть более эффективным, так как они обеспечивают высокую концентрацию антибиотиков на месте инфекции без системной токсичности [14]. В некоторых случаях требуется многоэтапное хирургическое вмешательство, включающее повторные дебридменты и использование временных фиксаторов, чтобы контролировать инфекцию перед окончательной реконструкцией. Важно учитывать, что использование биосовместимых и резорбируемых материалов, таких как кальцийсульфат и гидроксиапатит, может снизить риск рецидива инфекции и улучшить результаты лечения [15,16]. Наноцеллюлоза, выполняющая функцию промежуточного биоматериала, способствует формированию биологического остова, обеспечивающего временное закрытие костного дефекта и создание

условий, необходимых для запуска и поддержания процессов регенерации костной ткани. Она также может способствовать ангиогенезу, что важно для заживления костных дефектов [17]. Наноцеллюлоза может быть использована в составе инъекционных и самовосстанавливающихся гидрогелей, что позволяет минимально инвазивное лечение. Такие гидрогели демонстрируют высокую биосовместимость и способность к биоминерализации, стимулирует остеогенез [18]. Внедрение наноцеллюлозы в состав многослойных композитных каркасов может способствовать регенерации как твердых, так и мягких тканей [19].

Обогащение наноцеллюлозы различными препаратами усиливает её перспективное направление позволяющее добиваться направленного воздействия в зоне имплантации. В современной фармацевтической индустрии разработано множество лекарственных форм, выбор которых определяется характером и стадией патологического процесса. Они могут применяться как в виде монотерапии, так и в составе комбинированных схем, что позволяет не только индивидуализировать лечение, но и придавать терапии определённую направленность, например обеспечивать целевое воздействие на ткань с формированием специфического биологического эффекта, такого как остеоиндуктивность при регенерации костной ткани. Важно учитывать потенциальные риски, такие как развитие устойчивости к антибиотикам и возможные побочные эффекты. Наноцеллюлоза может быть модифицирована для улучшения её антибактериальных свойств путём включения различных биологически активных компонентов и антимикробных агентов [20]. Гидрогелевые пленки на основе целлюлозных нанокристаллов могут регулировать высвобождение антибиотиков, способствуя ускорению заживления ран и снижению риска инфекции [21]. Наночастицы с хитозаном, могут быть использованы для доставки антибиотиков и других антимикробных агентов, улучшая их эффективность при эрадикации инфекции [22, 23]. После стабилизации воспалительного процесса и достижения стерильности в зоне повреждения, наноцеллюлозный каркас может быть заменён на органический трансплантат аутологичный или аллогенный, что позволяет достичь полноценной реконструкции кости с восстановлением её анатомической и функциональной целостности. При сохранении признаков инфекционного процесса и отсутствии выраженной положительной динамики в течение нескольких дней возможно проведение ревизии с удалением ранее установленного композита и его повторной имплантацией. Такая тактика предусматривает возможность применения частого материала с одновременной коррекцией антибактериальной терапии при необходимости, что подчёркивает универсальность и адаптивность данного метода в клинической практике.

Таким образом, использование наноцеллюлозы в сочетании с антибактериальной терапией открывает новые возможности для эффективного лечения сложных костных дефектов и инфекционных осложнений в травматологии и ортопедии.

Внедрение синтетических и полусинтетических материалов в экспериментальную хирургию стало основой для последующего широкого

применения таких трансплантатов в клинической практике. Их основные преимущества заключаются в высокой биосовместимости, низком аллергогенном потенциале, соответствии современным требованиям к имплантируемым материалам, экономической выгоде в виде дешевизны и возможности масштабного производства без ограничений по объёму. Биокомпозит на основе наноцеллюлозы отличается простотой логистики и хранения: он не требует соблюдения специального температурного режима, применения особых условий транспортировки или сложных методов складирования, а также характеризуется стабильностью при стандартных сроках годности. Это подчёркивает его неприхотливость и удобство использования в клинической практике. Особое внимание в настоящее время среди наноматериалов уделяется синтетическим материалам, в частности наноцеллюлозе как перспективному материалу с высоким потенциалом дальнейшего развития и широкими возможностями практического применения в будущем.

Этот биополимер обладает уникальными свойствами, позволяющими создавать на его основе различные биокомпозиты с заданными характеристиками. В рамках данной работы проведено исследование биокомпозита на основе наноцеллюлозы.

Рабочая гипотеза – композитный материал на основе наноцеллюлозы является биосовместимым и при имплантации в область костного дефекта бедренной кости крыс улучшает репаративную регенерацию костной ткани.

Цель исследования – провести патоморфологическую и рентгенологическую оценку репаративной регенерации костной ткани при использовании композитного материала на основе наноцеллюлозы в модели дефекта бедренной кости у крыс.

Задачи исследования.

1. Провести морфометрическую и гистопатологическую оценку динамики репаративной регенерации костного дефекта кортикальной пластинки в группах с применением нанокомпозита на основе наноцеллюлозы в сравнении с контрольной группой.
2. Провести морфометрическую и гистопатологическую оценку динамики ремоделирования интрамедуллярного пространства в группах с применением нанокомпозита на основе наноцеллюлозы в сравнении с контрольной группой.
3. Провести анализ морфометрической и гистопатологической оценки ремоделирования и резорбции композита на основе наноцеллюлозы.
4. Провести сравнительную рентгенологическую оценку динамики репаративной регенерации костной ткани при заполнении костного дефекта биокомпозитом на основе наноцеллюлозы с контрольной группой.

Научная новизна

Впервые в сравнительном экспериментальном исследовании на модели дефекта бедренной кости крыс проведена гистологическая, гистоморфометрическая и рентгенологическая оценка процессов репаративной

регенерации костной ткани при применении биокомпозита на основе наноцеллюлозы.

Разработан новый способ имплантации наноцеллюлозного биокомпозита в область костного дефекта, предусматривающий различные уровни его размещения, кортикальный и интрамедуллярный, что позволило определить влияние глубины имплантации на процессы репаративной регенерации костной ткани (свидетельство № 54701 от 17 февраля 2025 года).

Впервые установлено, что эффективность регенерации костной ткани при использовании наноцеллюлозного биокомпозита зависит от способа его имплантации.

Получены новые данные о характере резорбции и ремоделирования наноцеллюлозного композита in vivo, свидетельствующие о его биосовместимости и способности поддерживать процессы остеогенеза без развития выраженной воспалительной реакции и некроза костной ткани (свидетельство № 40436 от 14 ноября 2023 года).

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Разработанная методика создания остеопластического дефекта диафиза бедренной кости у лабораторных животных позволяет достоверно воспроизводить экспериментальную модель для оценки эффективности биокомпозитов на основе наноцеллюлозы с контролем глубины и уровня заполнения дефекта.
2. Применение биокомпозита на основе наноцеллюлозы, с дигидратом дикальцийфосфатом, демонстрирует высокую биосовместимость и способствует активации репаративной регенерации костной ткани, превосходя по рентгенологическим и морфологическим показателям группу с аутогенным кровяным сгустком.
3. Способ трансплантации биокомпозита определяет интенсивность остеоинтеграции, неоангиогенеза и скорость ремоделирования костной ткани: интрамедуллярное размещение способствует раннему формированию костной ткани, интенсивной остеоинтеграции и ускоренному ремоделированию костного дефекта.

Практическая значимость

Проведённые в рамках диссертационной работы исследования значительно расширяют существующие представления о процессах регенерации костной ткани при использовании наноразмерных композитов. Впервые представлен биосовместимый и структурно стабильный биокомпозит на основе наноцеллюлозы с дикольцийфосфатом кальция, а также разработана и апробирована оригинальная методика его трансплантации в зону диафизарного костного дефекта.

Полученные экспериментальные и литературные данные подтверждают высокий остеокондуктивный потенциал исследуемого биоматериала, что открывает перспективы его использования не только для замещения дефектов костей различного генеза, но и в качестве платформы для локальной доставки лекарственных веществ. Это особенно актуально при лечении осложнённых

форм остеомиелита, доброкачественных и злокачественных новообразований костей, а также специфических воспалительных поражений скелета.

Комплекс исследованных свойств таких как механическая стабильность, биосовместимость, способность к ремоделированию и стимуляции ангиогенеза делает биокомпозит на основе наноцеллюлозы перспективной основой для создания нового класса биологически активных остеопластических имплантатов с возможностью направленного терапевтического действия.

Внедрение биоматериалов на основе наноцеллюлозы в клиническую практику способствует снижению зависимости от дорогостоящих импортных остеопластических трансплантатов и акцентирует внимание на приоритетности использования наноматериалов. Развитие технологий масштабируемого синтеза на базе собственного сырья открывает реальные перспективы формирования локальной линии биосовместимых имплантатов для костной пластики в Республике Казахстан.

Таким образом, полученные результаты обладают высокой прикладной ценностью для травматологии, ортопедии, онкологии, челюстно-лицевой хирургии и регенеративной медицины, а дальнейшее изучение взаимодействия наноцеллюлозных композитов с другими биоактивными веществами открывает перспективы для новых направлений в тканевой инженерии.

Связь диссертации с другими научно-исследовательскими работами

Данное исследование выполнено и профинансировано в рамках грантовой работы полученной от Комитетоа науки Министерства образования и науки Республики Казахстан, «Исследование взаимодействия биокомпозита на основе наноцеллюлозы в модели костного дефекта трубчатой кости в эксперименте in vivo». (грант № AR 19678427). Руководитель проекта: к.м.н., профессор кафедры биомедицины Ахметова Сауле Балтабаевна. Данный проект реализован в 2023-2025 гг.

Личный вклад автора

Диссертантом совместно с научными консультантами и научным коллективом кафедры хирургических болезней НАО «Карагандинский медицинский университет» проведены экспериментальные исследования на 72 лабораторных животных. В рамках работы была реализована воспроизводимая модель диафизарного костного дефекта бедренной кости у крыс, с последующим заполнением дефекта биокомпозитом на основе бактериальной наноцеллюлозы, модифицированной фосфатом кальция.

Эксперимент включал комплексную оценку состояния костной ткани на различных сроках (14, 30, 60 суток), с применением рентгенологических, гистологических и гистоморфометрических методов исследования. Все этапы хирургических вмешательств, включая моделирование дефекта, трансплантацию материала и забор биологических образцов, выполнены лично диссертантом в составе научной группы. Выведение животных из эксперимента осуществлялось в соответствии с этическими нормами.

Лично автором был проведён патентный поиск по теме исследования, выполнен обзор современной научной литературы, подготовлены научные

статьи, а также организована корреспонденция с редакциями отечественных и зарубежных научных журналов для представления результатов исследования.

Полученные экспериментальные данные были систематизированы, статистически проанализированы докторантом и оформлены в виде диссертационной работы. Основные положения исследования были представлены лично автором на 25-м юбилейном конгрессе EFORT (25th EFORT Annual Congress), состоявшемся в Гамбурге (Германия) 22–24 мая 2024 года. Постерная работа "Histological Assessment of Biocomposite in Bone Tissue Based on Nanocellulose In Vivo" была удостоена специальной награды “Awarded Poster” и сертификата отличия, как лучшая стендовая презентация в соответствующей научной секции.

Апробация работы

Основные положения диссертации доложены и обсуждены:

- Конкурс молодых учёных «Батпеновские чтения», в рамках Международной научно-практической конференции «Горизонты современной травматологии и ортопедии» (г. Туркестан, 15–16 сентября 2022 г.), устный доклад: «Результаты гистологического анализа экспериментального исследования наноматериала in vivo на экспериментальных животных».

- Научно-практическая конференция молодых учёных, магистрантов и докторантов, посвящённая Дню науки: «Мир науки и молодёжь: традиции и инновации» (НАО «Медицинский университет Караганды», 12 апреля 2023 г.), устный доклад: «Результаты гистологического анализа экспериментального исследования наноматериала in vivo на экспериментальных животных».

- Республиканская научно-практическая конференция с международным участием «Инновации в травматологии и ортопедии» (27 июля 2023 г.), доклад: «Сравнительная оценка методов заполнения костных дефектов биокомпозитом на основе наноцеллюлозы in vivo».

- 25-й Юбилейный международный конгресс EFORT (25th EFORT Annual Congress, Гамбург, Германия, 22–24 мая 2024 г.), постерная презентация: «Гистологическая оценка биокомпозита в костной ткани на основе наноцеллюлозы in vivo».
Работа была удостоена специальной награды (Awarded Poster) и сертификата отличия, как лучшая стендовая презентация в соответствующей научной секции (Приложение А).

- 26-й международный конгресс EFORT (The European Federation of National Associations of Orthopaedics and Traumatology), г. Лион, Франция (11–13 июня 2025 г.), постерный доклад: «Оценка нового биокомпозита на основе наноцеллюлозы, включая микробиологический, рентгенологический и гистоморфометрический контроль in vivo».

- Международная конференция «Современные подходы в травматологии, ортопедии и реабилитации: инновации и практическое применение», посвящённая 110-летию со дня рождения профессора Х.Ж. Макажанова и 75-летию НАО «Карагандинский медицинский университет», выступление с

докладом: «Гистологическая оценка биокомпозита в костной ткани на основе наноцеллюлозы in vivo».

- Расширенное заседание кафедры хирургических болезней НАО «Карагандинского медицинского университета» обсуждение промежуточных и итоговых результатов диссертационного исследования 20.05.2026 года.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 5 научных работ, из них:

- 3 в научных изданиях рекомендованных Комитетом по контролю в сфере образования и науки МОН РК;

- 2 публикации в международных научных изданиях, входящих в информационную базу Scopus:

- 2 свидетельства о внесении сведений в государственный реестр прав на объекты, охраняемые авторским правом:

1. Свидетельство о внесении сведений в государственный реестр прав на объекты, охраняемые авторским правом № 54701 от «17» февраля 2025 года (Приложение Б).

2. Свидетельство о внесении сведений в государственный реестр прав на объекты, охраняемые авторским правом № 40436 от «14» ноября 2023 года (Приложение В).

- 2 Акта внедрения результатов научно-исследовательских, научно-технических работ и (или) научно-технической деятельности (Приложение Г).

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 92 страницах компьютерного набора текстового редактора Microsoft Word, состоит из введения, 4 разделов: основной части, заключения и списка использованных источников. Диссертация имеет 4 приложения. Диссертация иллюстрирована 9 таблицами и 22 рисунками. Список литературы включает 134 источника на русском и английском языках.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Формирование дефектов костной ткани является закономерным следствием тяжёлых травматических повреждений, несостоятельности репаративного остеогенеза, а также хронических инфекционных процессов, требующих многоэтапных хирургических вмешательств. Существенную клиническую проблему представляет дефицит костной ткани, возникающий при опухолевых поражениях скелета, как первичных, так и метастатических, а также при кистозных образованиях кости [24-26]. В подобных случаях выполнение резекции патологически изменённых участков или ревизии и обработки кист неизбежно сопровождается образованием полостных и сегментарных дефектов, требующих последующего восполнения. Заполнение пострезекционных полостей костнопластическими материалами является обязательным этапом хирургического лечения, направленным на восстановление анатомической целостности, обеспечение механической стабильности сегмента и создание условий для полноценного репаративного остеогенеза [27].

В современной травматологии и ортопедии костный дефект рассматривается не только как результат первичной утраты костного вещества, но и как итог сложного патофизиологического каскада: ишемия тканей, воспаление, микробная контаминация, повторные санирующие оперативные вмешательства и как следствие необратимая прогрессирующая потеря костной ткани [28]. Не уступают в частоте формирования дефектов костной ткани, открытые, многооскольчатые переломы костей. Инфекционные осложнения при открытых переломах, по данным различных авторов, могут достигать 20–30%, а при тяжёлых повреждениях более 40% [29,30]. Несращение костей развивается в среднем у 2–10% пациентов, при этом при диафизарных переломах большеберцовой кости частота может достигать 15-20% [31]. Несращение переломов, а так же развитие инфекционного процесса требуют повторных оперативных вмешательств, удаления металлоконструкций, санации очага и резекции некротизированной кости, что приводит к формированию сегментарных и критических костных дефектов, неспособных к самостоятельной регенерации. Посттравматический и послеоперационный остеомиелит остаётся одной из наиболее частых причин утраты костной ткани. По мировым данным, заболеваемость остеомиелитом колеблется в пределах 10-22 случаев на 100 000 населения в год, с тенденцией к росту в старших возрастных группах [32]. Множественные санирующие операции при хронической инфекции неизбежно сопровождаются прогрессирующей потерей костного объёма, нарушением микроциркуляции и формированием рубцово-изменённых мягких тканей, что дополнительно снижает регенераторный потенциал зоны дефекта [33,34].

Современная ортопедия характеризуется высокой оперативной активностью. Широкое внедрение эндопротезирования крупных суставов тазобедренного, коленного, плечевого, позволило существенно улучшить качество жизни пациентов, однако сопровождалось ростом числа осложнений, в том числе инфекционных [35-37]. Перипротезная инфекция развивается в

среднем у 1-2% пациентов после первичного эндопротезирования и у 3-5% после ревизионных операций [38,39]. В случае инфицирования требуется удаление имплантата, агрессивная санация костного ложа, формирование спейсеров и проведение этапной ревизионной артропластики. Данные вмешательства часто сопровождаются значительной потерей костной ткани, особенно в области метафизарных отделов, что формирует сложные реконструктивные дефекты [40, 41]. Повторные ревизионные операции при нестабильности компонентов и асептическом расшатывании также приводят к прогрессирующей резорбции костной ткани. Таким образом, активная оперативная тактика, несмотря на её клиническую обоснованность, парадоксально увеличивает число пациентов с вторичными костными дефицитами, требующими заместительных технологий. Данная тенденция определяет необходимость разработки новых синтетических биоматериалов с управляемыми остеокондуктивными, остеоиндуктивными и биосовместимыми свойствами, способных эффективно замещать утраченный костный объём и стимулировать регенерацию

1.1 Современные подходы к восполнению дефектов костной ткани в травматологии и ортопедии

На сегодняшний день в травматологии и ортопедии остро стоит вопрос о выборе оптимального метода замещения дефектов костной ткани. В клинических ситуациях когда естественные регенераторные резервы организма оказываются недостаточными для восстановления утраченного объёма кости, возникает необходимость прибегнуть к замещению костной ткани. Материал для заместительной костной пластики должен отвечать ряду ключевых требований: биосовместимость; способность к интеграции в костную ткань;наличие пористой структуры, обеспечивающей клеточную инфильтрацию и ангиогенез; контролируемая биодеградация; механическая прочность, соответствующая зоне имплантации [42,43].

Традиционно «золотым стандартом» костной пластики считается аутотрансплантация, однако её применение ограничено объёмом донорского материала, дополнительной операционной травмой, риском осложнений со стороны донорской зоны и невозможностью использования при обширных дефектах [44,45]. Кроме того, у пациентов с инфекционным процессом или после многократных вмешательств аутокость не всегда обеспечивает прогнозируемый остеогенез. В связи с этим в клинической практике применяются различные трансплантационные материалы: аллогенные, ксеногенные и синтетические [46–49]. Их выбор определяется локализацией и размером дефекта, наличием инфекции, возрастом пациента, состоянием мягких тканей и другими клиническими факторами. Однако ни один из существующих материалов не является универсальным, поскольку выраженность таких свойств, как остеокондуктивность, остеоиндуктивность и антибактериальный потенциал варьируется. В настоящее время выделяют четыре основные группы материалов, применяемых для восполнения дефектов костной ткани: аутогенные трансплантаты, когда донором является сам пациент [50]. Они обладают высокой

остеогенной активностью, однако ограничены по объёму и сопряжены с донорской травмой. Аллогенные трансплантаты, полученные от другого человека - донора. Они лишены остеогенных клеток, но сохраняют остеокондуктивный каркас [51]. Ксеногенные материалы, полученные от животных. Они требуют сложной обработки и могут вызывать иммунные реакции [52]. Синтетические материалы, искусственно созданные биоматериалы, такие как кальций-фосфатные керамики, биоактивные стекла, полимерные матрицы и композиты [53]. Синтетические композиты разрабатываются с целью воспроизведения структурно-функциональных характеристик костной ткани. Их преимущество состоит в том, что они имеют стандартизированный состав и воспроизводимость свойств, отсутствие риска передачи инфекций при трансплантации, возможность модификации физико-химических параметров, таких как пористость, скорость резорбции, механическая прочность, направленная функционализация, включая придание остеокондуктивных, остеоиндуктивных, антимикробных свойств, а так же технологическая гибкость и масштабируемость производства [54,55].

В то же время синтетические материалы, как правило, не обладают собственной остеогенной активностью, могут иметь недостаточную механическую прочность при нагрузке, а их биорезорбция и интеграция зависят от химического состава и микроструктуры. Кроме того, некоторые из них демонстрируют хрупкость или несоответствие темпам физиологического ремоделирования костной ткани [56,57]. Однако указанные ограничения в значительной степени могут быть нивелированы посредством создания многокомпонентных биокомпозитов, позволяющих целенаправленно регулировать механические, биологические и деградационные характеристики материала, что и определяет их существенные преимущества по сравнению с традиционными костнопластическими трансплантатами [58].

1.2 Синтетические материалы для замещения дефектов костной ткани.

Синтетические биоматериалы представляют собой перспективное направление в регенеративной травматологии и ортопедии, поскольку позволяют целенаправленно конструировать матриксы с заданными свойствами, адаптированными к конкретной клинической задаче, однако требуют дальнейшей оптимизации с учётом баланса биосовместимости, остеоинтеграции и механической надёжности [59,60]. Современные синтетические материалы условно подразделяются на несколько основных групп.

Кальций-фосфатные материалы. Наиболее широко применяются соединения, по химическому составу близкие к минеральному компоненту кости: гидроксиапатит, β-трикальцийфосфат, бифазные кальций-фосфатные керамики. Данные материалы обладают выраженной остеокондуктивностью, обеспечивают каркас для роста костной ткани и постепенно подвергаются резорбции. Однако их применение ограничено хрупкостью, относительно низкой механической прочностью и отсутствием собственной остеоиндуктивной активности. Кроме того, скорость деградации не всегда соответствует темпам

неоостеогенеза, что может приводить к несоответствию процессов ремоделирования [61].

Биоактивные стеклокерамические материалы стимулируют формирование апатитоподобного слоя на поверхности имплантата и активируют остеобластическую дифференцировку. Они демонстрируют выраженную биологическую активность и могут обладать антимикробным потенциалом за счёт изменения локального pH. Недостатками являются высокая стоимость производства, хрупкость и ограниченные возможности модификации структуры без изменения механических характеристик [62].

Полимерные синтетические матрицы. В целях повышения остеокондуктивности и биологической активности синтетические полимерные матрицы, такие как полилактид, полигликолид, сополимер молочной и гликолевой кислот и поликапролактон, в практике регенеративной ортопедии, как правило, комбинируются с минеральными компонентами кальций-фосфатной природы. Наиболее распространённым примером является включение гидроксиапатита, химически близкого к минеральной фазе костной ткани, в состав композитов на основе полилактида или поликапролактона, что обеспечивает формирование апатитоподобного слоя на поверхности имплантата и улучшает его интеграцию с окружающей костью [63]. В случаях, когда требуется более активное ремоделирование и ускоренная замена материала новообразованной костной тканью, применяют композиции с β-трикальцийфосфатом, характеризующимся более высокой скоростью резорбции. В экспериментальных моделях костных дефектов также используются системы на основе двузамещённого фосфата кальция дигидрата, обладающие способностью к относительно быстрой биодеградации и постепенному высвобождению ионов кальция. Таким образом, полимерно-минеральные композиты представляют собой функциональные системы, в которых полимер выполняет роль пространственного каркаса, а минеральная фаза обеспечивает выраженный остеокондуктивный и минерализующий эффект, приближая свойства материала к структуре и биологии естественной костной ткани [64,65].

Композиционные синтетические системы. Наиболее перспективным направлением современной тканевой инженерии является создание композитных материалов, сочетающих органическую матрицу и минеральную фазу. Такой подход позволяет имитировать естественную структуру кости, состоящую из коллагенового каркаса и кристаллов гидроксиапатита [66]. Композиционные системы обеспечивают: улучшенную механическую стабильность, оптимальную пористость, контролируемую деградацию, возможность включения антибактериальных или остеоиндуктивных агентов. Именно композитные материалы рассматриваются сегодня как наиболее приближенные к требованиям «идеального костного заменителя»

1.3 Критерии современного синтетического материала

С учётом накопленного клинического и экспериментального опыта, современный синтетический материал для заместительной регенерации костной

ткани должен: обладать высокой биосовместимостью, стимулировать клеточную инфильтрацию и ангиогенез, обеспечивать остеокондукцию, иметь управляемую биодеградацию, поддерживать механическую стабильность зоны дефекта, быть технологически воспроизводимым и экономически доступным [67]. Несмотря на значительный прогресс в разработке синтетических материалов, остаётся нерешённой проблема создания матрицы, которая одновременно сочетала бы оптимальную микрофибриллярную архитектуру, высокую механическую прочность, возможность минерализации, модифицируемость поверхности, благоприятный профиль биосовместимости [68-70]. В этом контексте особое внимание современной науки сосредоточено на наноцеллюлозе, синтетической полимерной матрице нового поколения, обладающей уникальной трёхмерной фибриллярной структурой и способностью к интеграции с кальций-фосфатными компонентами [71-73]. Благодаря высокой площади поверхности, выраженной гидрофильности и возможности функционализации, наноцеллюлоза рассматривается как перспективная платформа для создания остеокондуктивных и потенциально остеоиндуктивных биокомпозитов [74,75].

Одним из наиболее перспективных направлений современной ортопедии и регенеративной медицины является разработка синтетических материалов нового поколения [76-78]. Их принципиальным преимуществом является воспроизводимость физико-химических характеристик, отсутствие риска передачи инфекций, неограниченная сырьевая база, технологическая масштабируемость, удобство транспортировки и хранения, а также экономическая доступность. В отличие от биологических трансплантатов, синтетические матрицы позволяют целенаправленно конструировать структуру материала, контролировать пористость, скорость биорезорбции, механическую прочность и биоактивность [79,80].

Эволюция синтетических костнозамещающих материалов закономерно привела к формированию отдельного направления, такого как нанотехнологические биоматериалы [81]. Переход к наноразмерному уровню организации обусловлен тем, что естественная костная ткань имеет иерархическую архитектуру, включающую наноразмерные компоненты (коллагеновые фибриллы, кристаллы гидроксиапатита). Следовательно, создание материалов с наноструктурированной поверхностью и высокоразвитой удельной площадью обеспечивает более физиологичное взаимодействие с клетками костной ткани, улучшает адгезию остеобластов, ангиогенез и процессы ремоделирования [82].

Среди наноструктурированных биополимеров особый интерес представляет наноцеллюлоза - биоразлагаемый, биосовместимый и экономически доступный материал, обладающий выраженным потенциалом для создания бионанокомпозитов [83]. В наноразмерной форме целлюлоза представлена фибриллами или кристаллитами, что обеспечивает формирование прочных пространственных сетчатых структур. Структурной особенностью наноцеллюлозы является наличие большого количества гидроксильных функциональных групп, способных вступать в химические взаимодействия и

обеспечивать широкий спектр функционализаций [84,85]. Это открывает возможности для включения остеокондуктивных минеральных фаз (гидроксиапатит, фосфаты кальция), инпрегнация антибактериальных препаратов, направленной доставки лекарственных средств, модификации поверхности для усиления клеточной адгезии и пролиферации [86]. Пористая трехмерная архитектура наноцеллюлозных матриц способствует диффузии питательных веществ, миграции клеток и формированию сосудистой сети, что принципиально важно для регенерации костной ткани [87]. Создание бионанокомпозитов на основе наноцеллюлозы позволяет объединить механическую стабильность полимерного каркаса с биоактивностью минеральных компонентов, тем самым приближая материал по свойствам к естественной кости.

1.4 Наноцеллюлоза как каркасный материал для создания костнозамещающих биокомпозитов

Наноцеллюлоза представляет собой целлюлозу в форме наноструктур, получаемую из растительного или бактериального сырья. Является наиболее распространённым природным полимером, присутствующим в древесине, хлопке, льне, а также синтезируемый рядом бактерий [88-90]. Несмотря на относительную простоту химического строения, природная целлюлоза обладает сложной иерархической организацией. В клеточных стенках растений она ассоциирована с лигнином и гемицеллюлозами, формируя многокомпонентную структурную систему [91,92].

Переход к наноразмерному уровню, нанофибриллярная или нанокристаллическая целлюлоза, сопровождается значительным увеличением удельной поверхности, улучшением механических характеристик и возможностью тонкой настройки морфологии материала. Это делает наноцеллюлозу одним из наиболее перспективных и безопасных материалов современной биомедицинской инженерии [93,94]. Однако, несмотря на убедительные экспериментальные данные, для широкого внедрения наноцеллюлозных композитов в клиническую практику необходим комплекс дополнительных исследований, включающих: оценку биосовместимости и цитотоксичности; анализ иммунного ответа; изучение темпов биодеградации in vivo; соответствие механических характеристик нагрузочным условиям; стандартизацию технологий промышленного производства [95,96]. Существующие технологические ограничения связаны с высокой энергоемкостью механической дезинтеграции волокон, длительностью процесса и относительно невысоким выходом продукта. Тем не менее, современные комбинированные методы предварительной обработки, такие как химическая, ферментативная, радиационная, позволяют существенно снизить энергозатраты и повысить эффективность получения нанофибриллярной целлюлозы, что создаёт предпосылки для её масштабного применения [97,98].

Таким образом, наноцеллюлоза как представитель нанотехнологических синтетических биоматериалов нового поколения сочетает экологичность,

биосовместимость, функциональную модифицируемость и потенциал для создания остеокондуктивных и лекарственно-нагруженных композитов, что обосновывает её перспективность в реконструктивной травматологии и ортопедии.

В современной научной литературе описан ряд биокомпозитных систем на основе наноцеллюлозы, ориентированных на применение в инженерии костной ткани.

Наноцеллюлоза и гидроксиапатит. Наиболее широко исследованной является двухкомпонентная система, включающая бактериальную наноцеллюлозу и гидроксиапатит [99]. Обладает следующими характеристиками как, выраженная пористая структура, высокая биосовместимость, стимуляция пролиферации и остеогенной дифференцировки клеток. In vitro подтверждена цитосовместимость с клетками костного мозга и клеточными линиями человека [100]. In vivo показано ускоренное заполнение дефектов бедренной кости у крыс по сравнению с контролем [101]. Данный тип композита демонстрирует выраженные остеокондуктивные свойства и способность интегрироваться в регенерирующую костную ткань.

Наноцеллюлоза с гидроксиапатитои и хитозаном. С целью улучшения механических параметров и регуляции деградационных свойств разработаны трехкомпонентные системы с добавлением хитозана. Хитозан в составе композита выполняет структурно-стабилизирующую функцию и усиливает остеогенный потенциал материала. Особенностями данного композита являются формирование прочного трехмерного матрикса, увеличение механической стабильности, улучшенная клеточная адгезия. Экспериментальные результаты показали высокую биосовместимость, поддержку процессов остеогенеза, формирование устойчивой пористой структуры при содержании хитозана до 30 % [102].

Наноцеллюлоза с гидроксиапатитом и фиброином шелка. Комбинированные системы с включением фиброина шелка (Bombyx mori) направлены на дополнительное повышение прочностных характеристик и биоактивности [103]. Особенностями данного композита являются высокая механическая прочность, гидрофильность, способность к хелатированию ионов Ca^{2+}.

Экспериментальные данные показали равномерное осаждение кристаллов кальций-фосфата на поверхности каркаса, усиление остеобластической дифференцировки, повышение активности щелочной фосфатазы и экспрессии остеогенных маркеров по сравнению с контрольными образцами. Данная композиция демонстрирует синергетический эффект компонентов и выраженный остеоиндуктивный потенциал [104].

Анализ представленных в источниках примеров показывает, что наноцеллюлоза успешно используется как базовый структурный компонент в различных бионанокомпозитах. Независимо от комбинации с минеральными или белковыми компонентами, она формирует стабильную трехмерную пористую архитектуру, обеспечивает механическую целостность матрикса, способствует

адгезии и дифференцировке остеогенных клеток, поддерживает процессы минерализации.

Таким образом, приведенные литературные данные подтверждают, что наноцеллюлоза является эффективным и универсальным каркасным материалом для создания биокомпозитов, предназначенных для регенерации костной ткани.

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данное экспериментальное исследование проводилось с 2022 по 2025 год, в НАО «Карагандинском медицинском университете», на базе кафедры хирургических болезней, кафедры морфологии, лаборатории коллективного пользования, вивария и ветеринарной клиники доктора Крюкова, кроме того, работа проводилась в сотрудничестве с кафедрой коллоидной химии Российского государственного университета нефти и газа имени И.М. Губкина город Москва, под руководством профессора, заведующего кафедрой Винокурова В.А. В рамках сотрудничества были разработаны и синтезированы исследуемые биоматериалы, использованные в экспериментальной части исследования.

2.1 Дизайн экспериментального исследования

Экспериментальное исследование было организовано в два этапа. На первом этапе у лабораторных животных выполнялось моделирование дефекта диафиза бедренной кости с последующим заполнением дефекта биокомпозитом с использованием двух различных методик трансплантации.

На втором этапе проводилось сравнительное исследование между группами, в которых биокомпозит на основе наноцеллюлозы и дигидрата дикальцийфосфата кальция трансплантировался различными способами.

НФЦ-1 - с заполнением как кортикальной пластинки, так и интрамедуллярного пространства в области дефекта.

НФЦ-2 - с заполнением только интрамедуллярного пространства в области дефекта

В контрольной группе место дефекта было заполнено АСГ (аутологичный сгусток крови, сформированный непосредственно у животного в ходе оперативного вмешательства (Рисунок 1).

Размер выборки для экспериментальных исследований на животных в настоящей работе определялся с учётом биоэтических принципов Рассела и Берча Replacement, Reduction, Refinement (1959), направленных на рациональное использование лабораторных животных и сокращение их количества до минимально необходимого для получения достоверных и статистически значимых результатов. Расчёт численности экспериментальных групп осуществлялся с применением общепринятой формулы определения объёма выборки: n = DF / k + 1, где n - количество животных в группе, k - число исследуемых групп, DF - количество степеней свободы. Такой подход позволил обеспечить репрезентативность выборки при строгом соблюдении биоэтических норм [105].

Далее представлен алгоритм проведения экспериментальной работы.

72 половозрелых беспородных белых лабораторных крыс-самцов были разделены по группам случайным образом.

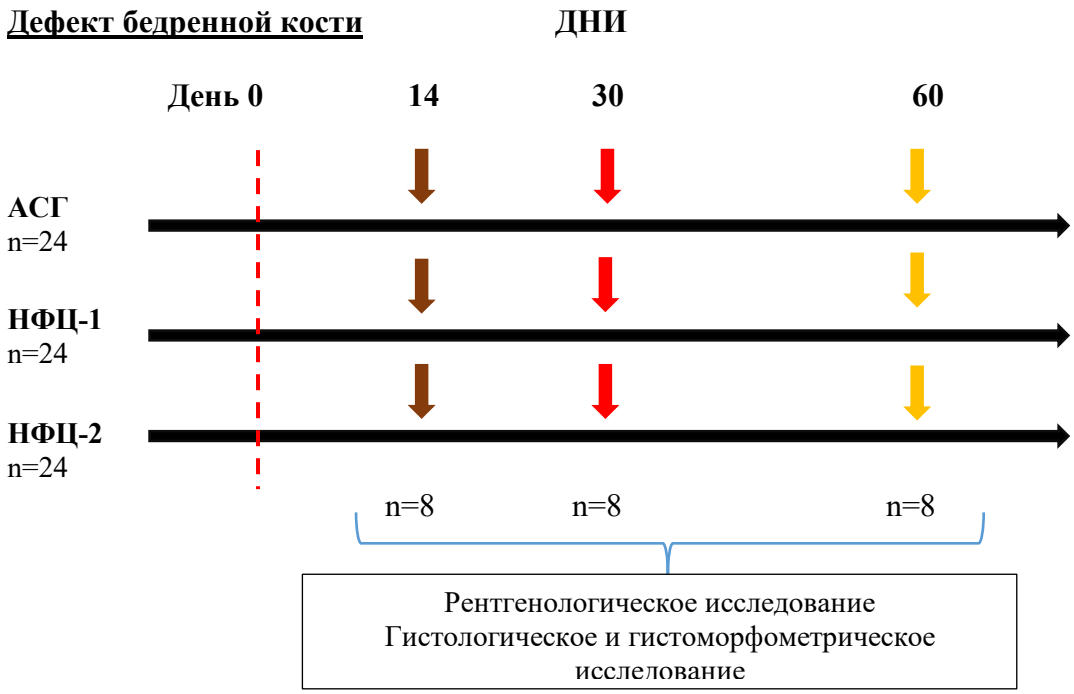


Рисунок 1 - Дизайн эксперимента

Как представлено на рисунке 1, в исследование были включены 72 лабораторных крыс, которые методом случайной выборки распределены на три группы по 24 животных в каждой.

После рандомизации всем животным выполнено хирургическое моделирование костного дефекта с последующим наблюдением в динамике.

На 14-е сутки после оперативного вмешательства всем животным проведено рентгенологическое исследование. На данном этапе из каждой группы выведено по 8 животных, образцы бедренной кости подвергнуты гистологическому, гистоморфометрическому и рентгенологическому анализу.

Аналогичный алгоритм применялся на 30-е, 60-е сутки эксперимента: после выполнения контрольного рентгенологического исследования из каждой группы выводили по 8 лабораторных животных с последующим проведением гистологического и гистоморфометрического исследования костной ткани.

2.2 Заготовка наноцеллюлозы и приготовление биокомпозита на ее основе

Изготовление биокомпозита на основе наноцеллюлозы с добавлением фосфата кальция было выполнено совместно с кафедрой физической и коллоидной химии Российского государственного университета нефти и газа имени И.М. Губкина (г. Москва). Биокомпозит на основе наноцеллюлозы был предоставлен на безвозмездной основе в качестве наноматериала для экспериментального исследования в рамках грантового проекта: «Исследование взаимодействия биокомпозита на основе наноцеллюлозы в модели костного дефекта трубчатой кости в эксперименте in vivo».

Методика получения биокомпозита на основе наноцеллюлозы с дигидрат дикальцийфосфатом, $CaHPO_4 \cdot 2H_2O$.

Отбеленную целлюлозу Архангельского ЦБК в виде 3% (мас.) суспензии подвергали механической деструкции на супермассколлайдере Masuko MKCA 6-5 (Рисунок 2) в течение 8 циклов.



Рисунок 2 - Супермассколлайдер Masuko MKCA 6-5

Полученная нанофибриллярная целлюлоза (НФЦ) имела средний диаметр волокон 12 нм и среднюю длину 1,5 мкм. Для синтеза композита брушита с НФЦ готовили два раствора:

Первый раствор: 0,05 моля $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ разводили в 300 мл водной суспензии НФЦ.

Второй раствор: 0,05 моля $Ca(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ растворяли в 100 мл дистиллированной воды.

Второй раствор при интенсивном перемешивании добавляли каплями в первый, поддерживая pH среды в диапазоне 6-6,5 с помощью 25%-ного раствора аммиака. Полученную смесь перемешивали (400 об/мин) при комнатной температуре в течение 1 часа. Осадок фильтровали в вакууме с использованием фильтровальной бумаги через воронку Бюхнера, трижды промывали деионизированной водой и высушивали при температуре 40°C в сушильном шкафу в течение ночи. Полученный биокомпозит подвергался стерилизации методом автоклавирования в стандартном режиме: 121°C, 1,1 атм, 15–30 минут. (Рисунок 3). Автоклавирование проводилось на базе Многопрофильной больницы имени профессора Макажанова Х.Ж.

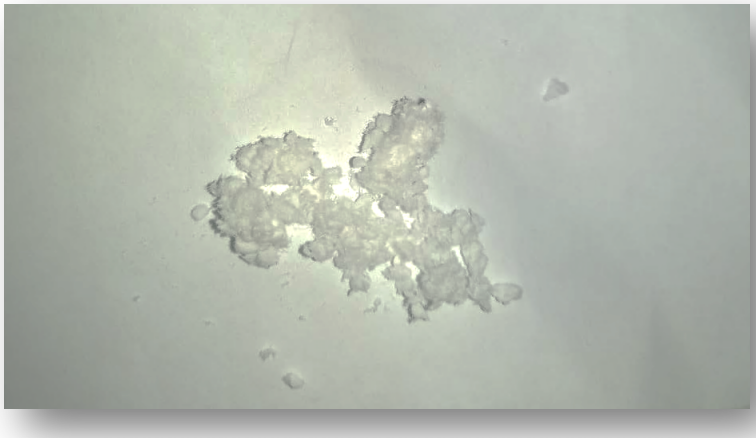


Рисунок 3 - Макроскопический внешний вид биокомпозита на основе наноцеллюлозы и дигидратом дикальций фосфатом $CaHPO_4 \cdot 2H_2O$. Внешний вид биокомпозита представляет собой волокна белого цвета, мягкой консистенции, без запаха, по сруктуре напоминающий медицискую вату

Биокомпозит на основе наноцеллюлозы и дигидрата дикальцийфосфата макроскопически представляет собой однородную волокнистую массу белого цвета без посторонних включений и механических примесей. Материал имеет мягкую, эластичную консистенцию, легко поддается моделированию вручную и способен адаптироваться к форме костного дефекта.

Структура биокомпозита визуально напоминает медицинскую вату: волокна равномерно распределены, формируют рыхлую, но связную объемную сеть. При тактильной оценке материал характеризуется умеренной упругостью и пластичностью, не крошится и не распадается при незначительном механическом воздействии.

Поверхность биокомпозита матовая, без блеска, сухая или умеренно увлажнённая (в зависимости от состояния хранения), без выраженного запаха. При компрессии материал частично уплотняется, однако после снятия нагрузки способен частично восстанавливать исходную форму, что свидетельствует о наличии внутренней волокнистой каркасной структуры.

При визуальной оценке не отмечается расслоения или выделения минеральной фазы, что указывает на равномерное распределение дигидрата дикальцийфосфата в объеме наноцеллюлозного матрикса. Материал сохраняет целостность при манипуляциях пинцетом и хирургическими инструментами, не прилипает к металлическим поверхностям и не оставляет следов.

Совокупность макроскопических признаков свидетельствует о формировании стабильного, однородного, легко моделируемого каркаса, пригодного для заполнения костных дефектов различной конфигурации.

Для оценки остеоиндуктивного и остеокондуктивного потенциалов биокомпозита проводилась гистологическая и гистоморфометрическая оценка. Для анализа и фотографирования изображений была использована программа AxioVision 7.2 для Windows.



Рисунок 4 - Микроскоп Zeiss AxioLab 4.0

На рисунке 4, представлен микроскоп Zeiss AxioLab 4.0, на котором, проводилось микроскопирование препаратов, с увеличением в х100, х200 и х400 крат.

Zeiss Axio Lab 4.0 относится к лабораторным прямым световым микроскопам исследовательского класса и предназначен для рутинной и углубленной морфологической диагностики. Прибор оснащён высококачественной оптической системой с ахроматическими и план-ахроматическими объективами, обеспечивающими чёткое изображение с высокой степенью контрастности и минимальными оптическими искажениями.

Конструкция микроскопа включает коаксиальную систему фокусировки, механический предметный столик с точной системой позиционирования препарата, а также встроенную систему освещения с регулируемой интенсивностью светового потока. Равномерность освещения и стабильность фокусировки обеспечивают воспроизводимость результатов при морфометрическом анализе.

Использование данного оборудования позволило провести качественную оценку клеточного состава, структуры новообразованной костной ткани и особенностей ремоделирования костного дефекта на различных сроках эксперимента.

Рентгенологическое исследование проводилось с применением цифрового рентген- аппарата DBC NumenMINI, с фокусным расстоянием 50 см. (Рисунок 5). Диагностическое исследования выполнялось в ветеринарной клинике доктора Крюкова г. Караганда.



Рисунок 5 - Цифровой рентген- аппарат DBC Numen MINI.

DBC NumenMINI представляет собой компактную цифровую рентгенодиагностическую систему, предназначенную для проведения высокоточных рентгенографических исследований. Аппарат оснащён цифровым детектором, обеспечивающим получение изображений высокого пространственного разрешения и минимизацию искажений.
Использование цифровой технологии позволило оперативно получать диагностические изображения с возможностью последующей обработки, масштабирования и архивирования данных. Регулируемые параметры экспозиции обеспечивали адаптацию режима исследования к размеру лабораторных животных и позволяли получать чёткую визуализацию костных структур бедренной кости.

Применение данного оборудования обеспечило воспроизводимость рентгенологических данных и объективную оценку процессов консолидации и ремоделирования костной ткани на различных сроках эксперимента.

2.3 Хирургические процедуры

Так как объектом исследования являлся костнопластический материал, оперативное вмешательство проводилось на костной ткани. Экспериментальное исследование выполнено с соблюдением этических норм в соответствии с Директивой Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС о защите животных используемых в экспериментальных и других научных целях [106] и приказом Министерства здравоохранения Республики Казахстан (МЗРК)

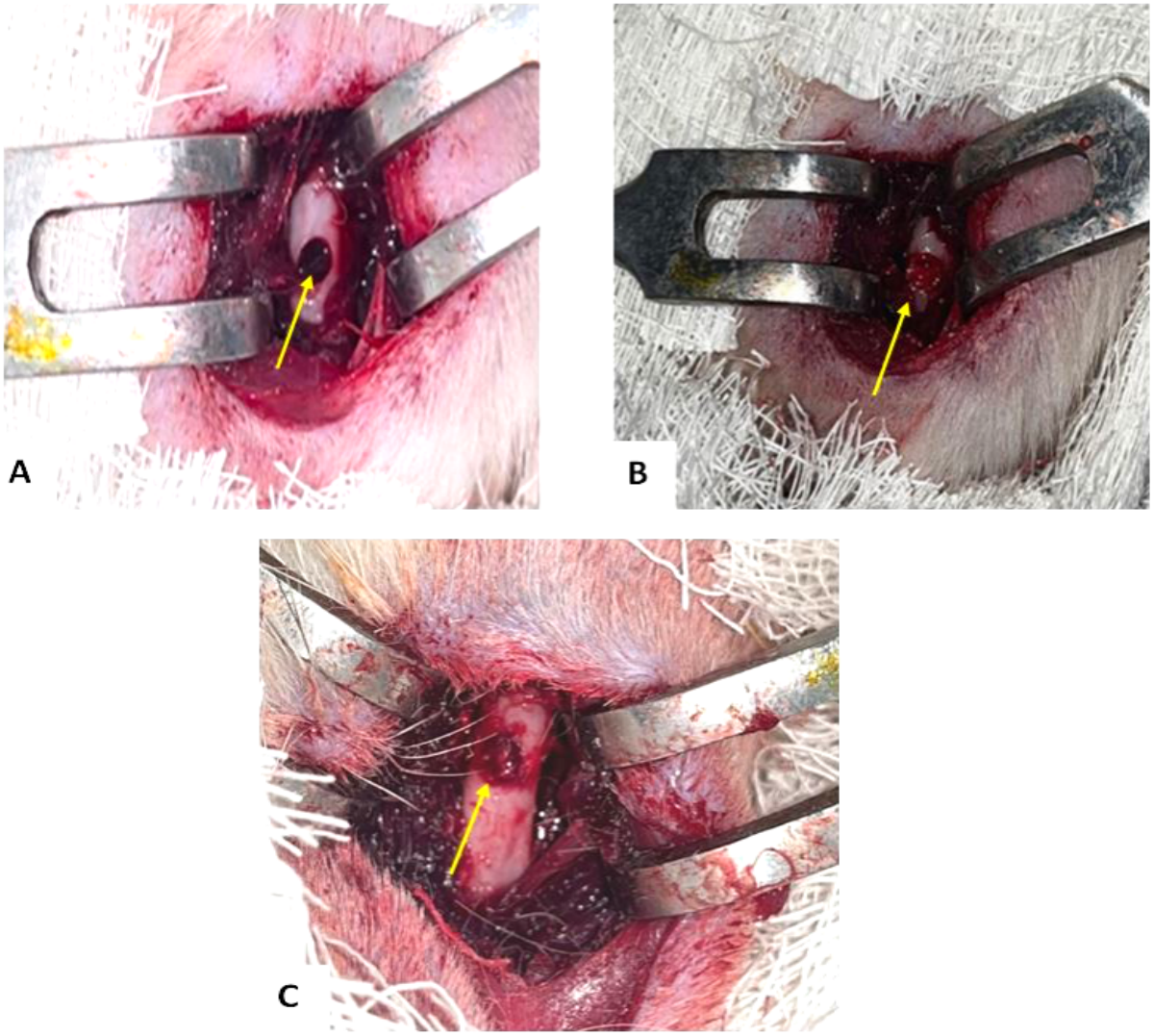
от 11 декабря 2020 года № ҚР ДСМ-255/2020 «Об утверждении правил проведения доклинических (неклинических) исследований и требований к доклиническим базам оценки биологического действия медицинских изделий», а так же экспериментальное исследование было одобрено Комитетом по Биоэтике НАО «Медицинский Университет Караганды» от 20.09.2022г., протокол №18. По завершении исследований все экспериментальные животные были списаны и утилизированы, в соответствие с приказом Министерства здравоохранения Республики Казахстан № ҚР ДСМ-255/2020. Все оперативные вмешательства на лабораторных животных выполнялись на базе вивария Карагандинского университета с соблюдением установленных требований к проведению экспериментальных исследований на животных и санитарно-гигиенических норм содержания лабораторных животных.

Перед оперативным вмешательством у каждого животного удаляли шерсть в зоне разреза, чтобы минимизировать риск осложнений при заживлении послеоперационной раны. Учитывая анатомические особенности крыс, вмешательство проводилось на бедренной кости, так как она являлась наиболее крупной из костей конечностей. Операция выполнялась с соблюдением всех правил асептики и антисептики.

Для удобства выполнения, а так же для снижения травматичности, оперативное вмешательство проводилось на левой конечности, которая фиксировалась в свободной руке хирурга. Разрез кожи длиной около 10 мм выполнялся на передне-наружной поверхности бедра. Доступ к средней трети бедренной кости осуществлялся путем послойного рассечения кожи и фасции бедра. Мышцы раздвигались тупым способом, обеспечивался малотравматичный доступ к участку кости. После обнажения диафиза бедра производилось бережное отделение надкостницы. В центре операционного поля формировали костный дефект, ориентируясь на уплощение бедренной кости, которое начинается в верхней трети и продолжается до средней трети. Учитывая плотность кортикального слоя бедра, для предотвращения избыточной травматизации мягких тканей, сосудов и нервов перед сверлением выполняли надсечку костной ткани с помощью острого шила или спицы Киршнера. Дефект диаметром 2 мм формировали сверлом, достигая костномозгового канала. Благодаря предварительной надсечке кортикального слоя дефект получался с ровными краями, без сколов и переломов, что предотвращало патологические переломы конечности у экспериментальных животных, а так же являлось важным фактором в предотвращении влияния сторонних процессов регенерации костной ткани, при наличии дополнтельных повреждений кости.

После формирования дефекта его заполняли биокомпозитом на основе наноцеллюлозы. В зависимости от групп исследования, биокомпозит в дефект трансплантировался либо до кортикального слоя, либо трансплатировался только на уровне костно мозгового канала, не достигая кортикальной пластинки, после чего биокомпозит естественным образом пропитывался геморрагическим отделяемым из костномозгового канала. Послеоперационную рану ушивали послойно узловыми швами.

В исследовании было использовано 72 взрослых белых беспородных лабораторных крыс, самцов, массой 350 ± 55 г. Животные содержались в клетках по 5 особей, при температуре 22 ± 2°C, влажности 40–50% и 12-часовом световом режиме. Крысы случайным образом разделили на 3 группы по 24 животных в каждой. Под анестезией (Золетил 15 мг/кг, Virbac, США) на передней поверхности бедра выполняли доступ к бедренной кости, далее в средней трети диафиза формировали округлый костный дефект диаметром 2 мм и глубиной 1 мм с помощью сверла (Рисунок 6).



(B) НФЦ-1 - с заполнением как кортикальной пластинки, так и интрамедуллярного пространства в области дефекта, (C) НФЦ-2 - с заполнением дефекта на уровне интрамедуллярного пространства

Рисунок 6 - Макроскопический интраоперационный вид модели дефекта бедренной кости в группах с заполнением дефекта аутологичным кровяным сгустком (A) и наноцеллюлозой с различными методами заполнения

Как видно из Рисунка 6

А - Макроскопический вид заполнения дефекта бедренной кости аутологичным кровяным сгустком – дефект хорошо визуализируется, края дефекта ровные, полость дефекта заполнена темно-красной массой (аутологичный кровяной сгусток) (желтая стрелка).

В - Макроскопический вид кортикальной пластинки и интрамедуллярного пространства в области дефекта, заполненных наноцеллюлозой с использованием технологии заполнения НФЦ-1 - края дефекта не визуализируются, синтетический композит на основе наноцеллюлозы с дигидратом дикальцийфосфата не выступает из дефекта выше уровня кортикальной пластинки, полностью закрывает дефект. Интрамедуллярное пространство и кортикальная пластинка в области дефекта (желтая стрелка).

С - Макроскопический вид кортикальной пластинки и интрамедуллярного пространства в области дефекта, заполненного наноцеллюлозой с использованием технологии заполнения НФЦ-2 - края дефекта хорошо визуализированы и ровные. Композит на основе наноцеллюлозы с дигидратом дикальцийфосфата расположен ниже уровня кортикальной пластинки, заполняя только интрамедуллярное пространство (желтая стрелка).

Далее на рисунке представлена схема предлагаемой методики заполнения дефекта костной ткани биокомпозитом и аутологичным сгустком крови (Рисунок 7).



Рисунок 7 - Схема имплантации биокомпозита в дефект бедренной кости

Как видно из рисунка 7:

А - в первой группе дефекты в бедренной кости были заполнены аутологичным сгустком крови, образовавшимся при сверлении дефекта бедренной кости.

В - во второй группе дефекты были заполнены композитом НФЦ таким образом, чтобы композит был на уровне кортикальной пластинки кости, то есть выступал на пределы интрамедуллярного пространства.

С - в третьей группе, дефект заполняли композитом НФЦ таким образом, чтобы композит не выступал за пределы интрамедуллярного пространства.

После имплантации биокомпозита в область сформированного костного дефекта проводилась послойная репозиция мягких тканей с тщательной адаптацией краёв раны. Гемостаз контролировался на протяжении всего оперативного вмешательства. Мышечно-фасциальные слои сопоставлялись с восстановлением анатомических ориентиров, после чего осуществлялось ушивание кожной раны узловыми швами викрилом 5/0 (Ethicon, Johnson &

Johnson, США). Рана обрабатывалась антисептическим раствором, накладывалась асептическая повязка.

По завершении операции животные выводились из наркоза под наблюдением с последующим переводом в стандартные условия содержания вивария для динамического послеоперационного контроля.

2.4 Гистологическое и морфометрическое исследование

Гистологическое исследование проводилось методом световой микроскопии на 14, 30, 60-е сутки после оперативного вмешательства в соответствии с дизайном исследования. По достижении соотвествующих сроков наблюдения животных выводили из эксперимента путем передозировки наркозных препаратов. После эвтаназии препарировали оперированную конечность с последующим извлечением блока бедренной кости, содержащего область экспериментально сформированный дефект и прилежащие мягкие ткани.

Объектом гистологического исследования являлся фрагмент бедренной кости с экспериментально сформированным дефектом, заполненным биокомпозитом на основе наноцеллюлозы. На рисунке 8 представлена извлечённая бедренная кость экспериментального животного со сформированным костным дефектом, заполненным биокомпозитом на основе наноцеллюлозы. Область имплантации обозначена жёлтой стрелкой.

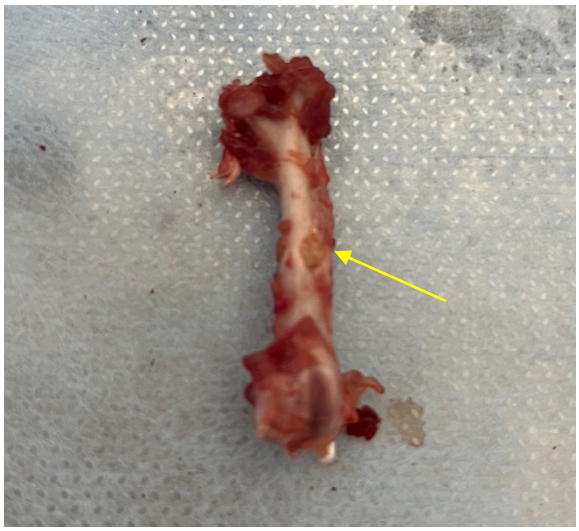


Рисунок 8 - Макроскопический вид модели дефекта бедренной кости, заполненный биокомпозитом на основе наноцеллюлозы.

Макроскопически визуализируется зона дефекта с сохранением анатомической целостности костного сегмента. Биокомпозит расположен в пределах сформированной полости, без признаков смещения или выпадения материала. Представленный образец предназначен для последующего проведения гистологического и гистоморфометрического анализа с целью

оценки процессов регенерации костной ткани и интеграции имплантированного материала.

После забора материала, его помещали в стерильный маркированный контейнер, с последующей транспортировкой в лабораторию, где производился процесс приготовления микропрепаратов.

Перед окрашиванием тканевые образцы фиксировали в 10% нейтрально забуференном формалине в течение 24 часов при комнатной температуре, после чего проводилась декальцинация в растворе Biodec R (Bio-Optica Milano SPA) также в течение суток. Далее образцы промывались в фосфатном буфере с pH 7,4. По завершении декальцинации выполнялся фронтальный разрез образца, и материал повторно фиксировали в формалиновом растворе при +4 °C в течение ещё 24 часов.

Затем следовал этап обезвоживания в последовательности спиртов возрастающей концентрации (70%, 90%, 95%, 100%), последующая обработка ксилолом и заключение образцов в парафиновые блоки.

Срезы тканей толщиной 3 мкм получали с помощью микротома и монтировали на предметные стекла. Затем предметные стекла депарафинировали, окрашивали гематоксилином и эозином и трихромом Массона. На каждый срез наносили монтирующую среду, накрывали покровным стеклом и давали высохнуть. Окрашенные срезы исследовали под световым микроскопом.

Процедура окрашивания гематоксилином и эозином.

Окрашивание гематоксилином и эозином использовалось для общей морфологической оценки ткани, визуализации клеточных элементов и выявления воспалительной инфильтрации и некроза.

Срезы тканей погружали в гематоксилин Майера на четверть часа, затем промывали водопроводной водой в течение 5 минут. После этого срезы окрашивали эозином в течение минуты.

Процедура окраски трихромом по Массону.

Для оценки процессов остеогенеза и ремоделирования костной ткани гистологические срезы окрашивали трихромом Массона позволяющим дифференцировать минерализованную костную ткань. Для выполнения окрашивания использовали коммерческий набор «Трихром Массона» (BioVitrum, ТУ 9398-001-89079081-2012).

Исследование препаратов производилось на микроскопе Zeiss AxioLab 4.0, с увеличением x100, x200 и x400. Для анализа и фотографирования изображений была использована программа AxioVision 7.2 для Windows.

Оценка морфологических изменений осуществлялась вслепую, без доступа к информации о принадлежности животных к группе.

Морфометрический анализ

Гистоморфометрическое исследование репаративной регенерации костной ткани кортикальной пластинки и ремоделирования интрамедуллярного пространства выполняли с использованием планиметрической сетки Автандилова Г.Г. [107]. Точки пересечения сетки, попавшие на ткани

подсчитывали вручную и определяли соотношение между контрольными точками и общим количеством точек сетки, попавших на ткань. Полученные данные переводили в проценты в соответствии с общим количеством точек планиметрической сетки:

Гистоморфометрические измерения проводили на трех последовательных гистологических срезах для каждого образца, после чего рассчитывали среднее значение для каждого образца ткани.

При проведении морфометрического анализа репаративной регенерации костной ткани рассчитывались следующие показатели:

- закрытие дефекта кортикальной пластинки новообразованной костной тканью по длине (%);
- закрытие дефекта кортикальной пластинки новообразованной костной тканью по толщине (%);
- тканевой состав зоны дефекта кортикальной пластинки (%), включая доли костной, хрящевой и фиброзной ткани.

Во всех гистологических срезах также дополнительно проводили качественную оценку репаративной регенерации новообразованной костной ткани

Новообразованную костную ткань оценивали следующим образом: костная ткань, аналогичная исходной кортикальной кости - 4; пластинчатая (ламеллярная) или незрелая сетчатая кость с активным остеогенезом – 3; пластинчатая (ламеллярная) или незрелая ретикулофиброзная (грубоволокнистая) кость с активным остеогенезом и остеокластической активностью - 2; преобладает ткань, отличная от костной (например, фиброзная ткань) - 1; воспаление – 0 [108].

Морфометрическую оценку репарации дефекта кортикальной пластинки проводили в зоне, ограниченной радиально краями дефекта и латерально собственной бедренной костью, а также внешней границей композита и/или новообразованной костной ткани. Ткани, указывающие на неспецифический репаративный процесс, такие как сосуды или гаверсовы каналы, не включались в количественную оценку [109].

Морфометрическую оценку тканей интрамедуллярного пространства проводили в проекции дефекта кортикальной пластинки, ограниченной радиально проекцией краев дефекта кортикальной пластинки, латерально - границей нативной кортикальной пластинкой бедренной кости.

Резорбция композита – определялась как клеточно-опосредованная деструкция композита с нарушением его структуры, фрагментацией и наличием большого количества многоядерных гигантских клеток.

Зона контакта композита с окружающими тканями: ремоделируемая костная ткань с остеобластами и/или остеокластами на поверхности - 3, локализованная фиброзная ткань, не организованная в капсулу - 2, фиброзная капсула - 1, воспаление - 0.

Ткань в межфрагментарных пространствах композита: зрелая кость и дифференцированный костный мозг - 3; фиброзная соединительная ткань с

концентрацией коллагеновых волокон на границе композита - 2; ткань интерстиция состоит из фиброзной соединительной ткани с выраженным клеточным и сосудистым компонентом - 1; не может быть оценена из-за проблем, не связанных с исследуемым материалом - 0.

Гигантоклеточная реакция: многочисленные гигантские многоядерные клетки инородных тел, формирующие зоны резорбции - 3; умеренное количество гигантских многоядерных клеток инородных тел, располагающися вокруг частиц композита - 2; единичные гигантские многоядерные клетки инородных тел - 1; гигантские многоядерные клетки инородных тел отсутствуют - 0.

Ремоделирование композита определяли как процесс реминерализации и ремоделирования с замещением композита новообразованной костной тканью. Ремоделирование/резорбция композита оценивалось в центральной и периферической части композита качественно (наличие/отсутствие), а также в процентах от площади композита. Центральная зона определялась как внутренняя часть композита, расположенная на расстоянии более 50% радиуса или толщины от его внешнего края. Периферическая зона определялась как наружная часть композита, непосредственно прилегающая к окружающей костной ткани или интрамедуллярному пространству на расстоянии менее 50% радиуса или толщины от его внешнего края.

Терминология, используемая в гистоморфометрическом анализе, соответствовала рекомендациям Комитета по номенклатуре гистоморфометрии Американского общества исследований костей и минералов [110].

2.5 Статистический анализ

Для обработки результатов исследования применялись методы описательной и непараметрической статистики. Характер распределения количественных переменных оценивали с использованием теста Шапиро-Вилка. При уровне статистической значимости $p<0.05$ нулевая гипотеза о нормальности распределения отклонялась.

Количественные данные представлены в виде среднего значения (M) и стандартного отклонения (SD) либо медианы (Me) и квартилей (Q1–Q3), в зависимости от распределения данных. Категориальные данные представлены в виде абсолютных значений и процентов от общей численности группы, n(%).

Для анализа различий между группами по качественным признакам использовали статистический критерий χ^2 с поправкой на непрерывность Йейтса. Сравнительный анализ между двумя независимыми группам проводился с использованием критерия Манна-Уитни, сравнение трех независимых групп проводили с использованием критерия Краскела–Уоллиса.

Анализ данных осуществлялся с использованием программного обеспечения Statistica 10.0 и IBM SPSS Statistic 27.0 (Inc., Chicago, IL, USA, an IBM Company). Проверка всех гипотез проводилась с использованием двустороннего p-значения с порогом статистической значимости <0.05.

3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 Гистологическая и гистоморфометрическая оценка репаративной регенерации костного дефекта кортикальной пластинки, ремоделирования интрамедуллярного пространства и резорбции композита

3.1.1 Оценка тканевого состава в зоне дефекта кортикальной пластинки

Гистологическая и гистоморфометрическая оценка репаративной регенерации костного дефекта кортикальной пластинки в группах исследования через 14 суток после оперативного вмешательства предоставлена в Таблице 1 и Рисунках 10-12.

На 14 сутки после оперативного вмешательства в группе *АСГ* в зоне дефекта кортикальной пластинки наблюдались морфологические признаки ранней стадии репаративной регенерации костной ткани с развитием первичной трабекулярной сети и частичным восстановлением структуры кортикальной пластинки (Таблица 1, Рисунок 9 a,b). Дефект был частично на 26.8% заполнен новообразованной костной тканью, представленной разветвлённой сетью формирующихся трабекул в отдельных участках анастомозирующих между собой. Формирующиеся костные трабекулы характеризовались неравномерной толщиной и извилистым контуром с участками различной степени минерализации. В ряде участков отмечалось образование костных мостиков между трабекулами, преимущественно в области их концевых отделов. Поверхность трабекул была выстлана остеобластами и остеокластами. В межтрабекулярных пространствах определялась рыхлая соединительная ткань с умеренным количеством тонкостенных сосудов. Новообразованная костная ткань закрывала дефект кортикальной пластинки (на 28.3% и на 24.8% по длине и толщине соответственно). Продолжающиеся процессы остеогенеза, организации и ремоделирования дефекта характеризовались наличием в зоне дефекта, помимо костной ткани, очагов хрящевой ткани (3.5%), представленной небольшими островками гиалиноподобного матрикса с хондроцитами в лакунах и обширными полями фиброзной соединительной ткани (в среднем 70.3%), представленной рыхлой волокнистой соединительной тканью.

В группе *НФЦ-1* во всех случаях (100%) в зоне дефекта кортикальной пластинки преобладал композитный материал на основе наноцеллюлозы, занимающий значительную часть дефекта (до 41%) и распространяющийся в интрамедуллярное пространство, формируя плотные гетерогенные участки фрагментированного материала, местами окруженные рыхлой волокнистой соединительной тканью (Таблица 1, Рисунок 10 a,b). По периферии дефекта, преимущественно в области его краёв, отмечались небольшие очаги новообразованной костной ткани (в среднем до 11.6%), представленной тонкими костными балками и отдельными трабекулами, формирующимися со стороны периостальных и эндостальных отделов кости. Образующиеся костные структуры были тонкими, неравномерной толщины с извилистым контуром, располагались фрагментарно и не формировали замкнутой трабекулярной сети. В отдельных участках отмечались небольшие зоны остеоидного матрикса,

поверхность формирующихся костных балок была выстлана остеобластами. Новообразованная костная ткань на 11.6% закрывала дефект кортикальной пластинки, составляя 12.9% ее длины и 10.4% толщины. Помимо этого, в зоне дефекта выявлялись участки фиброзной соединительной ткани (41.1%) и очаги хрящевой ткани (5.9%). Фиброзная ткань была представлена пучками коллагеновых волокон с фибробластами, формирующимися преимущественно по периферии дефекта и между фрагментами композитного материала. В ряде участков в соединительной ткани отмечалась умеренная клеточная инфильтрация с наличием микрососудов. Гистологическая картина в группе НФЦ-1 через 14 суток после оперативного вмешательства характеризуется преимущественно сохранением композитного материала в зоне дефекта, ограниченным формированием новообразованной костной ткани по его периферии и выраженной соединительнотканным замещением костного дефекта.

В группе *НФЦ-2* в зоне дефекта кортикальной пластинки выявлялись выраженные морфологические признаки активной репаративной регенерации костной ткани, характеризующиеся заполнением 38.6% дефекта кости новообразованной костной тканью (39.9% по длине дефекта и 37.4% по его толщине) (Таблица 1, Рисунок 11 a,b). В большинстве 5(62.5%) наблюдений определялась незрелая ретикулофиброзная (грубоволокнистая) костная ткань с признаками активного остеогенеза, а в 3(37.5%) случаях на поверхности костных балок выявлялись остеокласты, располагающиеся в углублениях костной поверхности. В некоторых участках выявлялись зоны остеоидной ткани, представленные слабо минерализованным межклеточным веществом. Признаков выраженной воспалительной реакции, некротических изменений или деструкции окружающих тканей во всех случаях не отмечалось. Пространства между костными трабекулами были заполнены рыхлой соединительной тканью, содержащей многочисленные сосуды. В отдельных участках определялись небольшие островки хрящевой ткани (4.6%). В целом, морфологическая картина в группе НФЦ-2 на 14-е сутки после оперативного вмешательства характеризуется интенсивным формированием новообразованной костной ткани, развитием анастомозирующей трабекулярной сети, активной васкуляризацией межтрабекулярных пространств и частичным восстановлением структуры кортикальной пластинки.

При морфометрическом анализе через 14 суток после оперативного вмешательства установлены различия в степени общего закрытия дефекта кортикальной пластинки между исследуемыми группами. Наиболее выраженное закрытие дефекта наблюдалось в группе НФЦ-2. В количественном отношении показатель закрытия дефекта был выше по сравнению с группой АСГ в 1,4 раза, однако различия не достигли статистической значимости после применения поправки Бонферрони (p_2 = 0,021). По сравнению с группой НФЦ-1 степень закрытия дефекта в группе НФЦ-2 была выше в 3.3 раза, различия статистически значимы (p_3= 0.003). В группе АСГ наблюдалось умеренное закрытие дефекта,

преимущественно за счёт фиброзной ткани, при этом суммарная степень закрытия костной тканью превышала показатели группы НФЦ-1 в 2.3 раза.

При анализе репарации дефекта по длине и ширине в группе НФЦ-1 отмечалось наименьшее закрытие дефекта, при этом значительная часть дефекта сохранялась и была заполнена некостными тканями. Показатель закрытия дефекта костной тканью по длине в группе НФЦ-2 был выше, чем в группе АСГ в 1.4 раза (p_2=0.021). По сравнению с группой НФЦ-1 данный показатель в группе НФЦ-2 был выше в 3.1 раза (p_3=0.003). В группе АСГ показатель закрытия дефекта по длине также превышал аналогичный показатель в группе НФЦ-1 в 2.2 раза (p_2 = 0.021). Аналогичная тенденция наблюдалась при оценке закрытия дефекта по толщине. В группе НФЦ-2 показатель был выше, чем в группе АСГ в 1.5 раза, однако различия не были статистически значимыми (p_2 = 0,065), выше, чем в группе НФЦ-1 в 3.6 раза (p_3=0.0001). В группе АСГ данный показатель превышал НФЦ-1 в 2.4 раза (p_1=0.0001).

Доля хрящевой ткани во всех группах оставалась незначительной. В группе НФЦ-1 этот показатель превышал АСГ в 1.7 раза, однако различия не достигли статистической значимости после применения поправки Бонферрони (p_1=0.050). При сравнении с группой НФЦ-2 различия также были статистически незначимыми (p_2=0.328). Доля фиброзной ткани была максимальной в группе АСГ, превышая НФЦ-1 в 1.7 раза (p_1=0,0001), НФЦ-2 в 1.2 раза (p_2=0,005). Между группами НФЦ-1 и НФЦ-2 отмечалось увеличение доли фиброзной ткани в группе НФЦ-2 в 1.4 раза, однако различия не достигли статистической значимости (p_3=0.065).

Гистологическая и гистоморфометрическая оценка репаративной регенерации костного дефекта кортикальной пластинки в группах исследования через 30 суток после оперативного вмешательства предоставлена в Таблице 2 и Рисунках 12-14.

На 30-е сутки после оперативного вмешательства в группе *АСГ* в зоне дефекта кортикальной пластинки выявлялись морфологические признаки репаративной регенерации костной ткани, характеризующиеся увеличением площади новообразованной кости до 26.8% (Таблица 2, Рисунок 12 a,b). Гистологически в области дефекта кортикальной пластинки определялись участки новообразованной костной ткани, представленные множественными костными балками и трабекулами различной толщины и протяжённости, отмечался активный продольный рост костных балок со стороны краёв дефекта, способствующих восстановлению протяжённости кортикальной пластинки. Формирующиеся трабекулы имели неравномерную толщину, извилистый контур и различную степень минерализации, анастомозировали между собой, формируя разветвлённую трабекулярную сеть. Поверхность костных балок местами была выстлана остеобластами, в отдельных участках определялись остеокласты, располагающиеся в резорбционных лакунах.

Таблица 1 – Гистологическая и гистоморфометрическая оценка репаративной регенерации костного дефекта кортикальной пластинки через 14 суток после оперативного вмешательства

Характеристики	Группы		
	АСГ n = 8	НФЦ-1 n = 8	НФЦ-2 n = 8
Кортикальная пластинка			
Закрытие дефекта костной тканью			
По длине, %	28.3 ± 7.9 p_1=0.021 p_2=0.021	12.9 ± 13.7 p_3=0.003	39.9 ± 6.9
По толщине, %	24.8 ± 5.4 p_1=0.0001 p_2=0.065	10.4 ± 2.7 p_3=0.0001	37.4 ± 15.4
Закрытие дефекта прочими тканями			
Аутологичный сгусток крови/ композит, %	-	41.4 ± 13.8	-
Хрящевая ткань, %	3.5 ± 2.1 p_1=0.050 p_2=0.328	5.9 ± 2.5 p_3=0.328	4.6 ± 2.3
Фиброзная ткань, %	70.3 ± 5.6 p_1=0.0001 p_2=0.005	41.1 ± 16.2 p_3=0.065	56.8 ± 9.8
Качественная оценка костной ткани, n(%)			
костная ткань, аналогичная исходной кортикальной кости	-	0 (0)	0 (0)
пластинчатая (ламеллярная) или незрелая ретикулофиброзная (грубоволокнистая) кость с активным остеогенезом	1 (12.5)	0 (0)	5 (62.5)
пластинчатая (ламеллярная) или незрелая ретикулофиброзная (грубоволокнистая) кость с активным остеогенезом и остеокластической активностью	7 (87.5)	0 (0)	3 (37.5)
преобладает ткань, отличная от костной	-	8 (100)	0 (0)
воспаление	-	0 (0)	0 (0)

p - уровень статистической значимости;
p_1 - различия между группами АСГ и НФЦ-1;
p_2 - различие между группами АСГ и НФЦ-2;
p_3 - различия между группами НФЦ-1 и НФЦ-2.

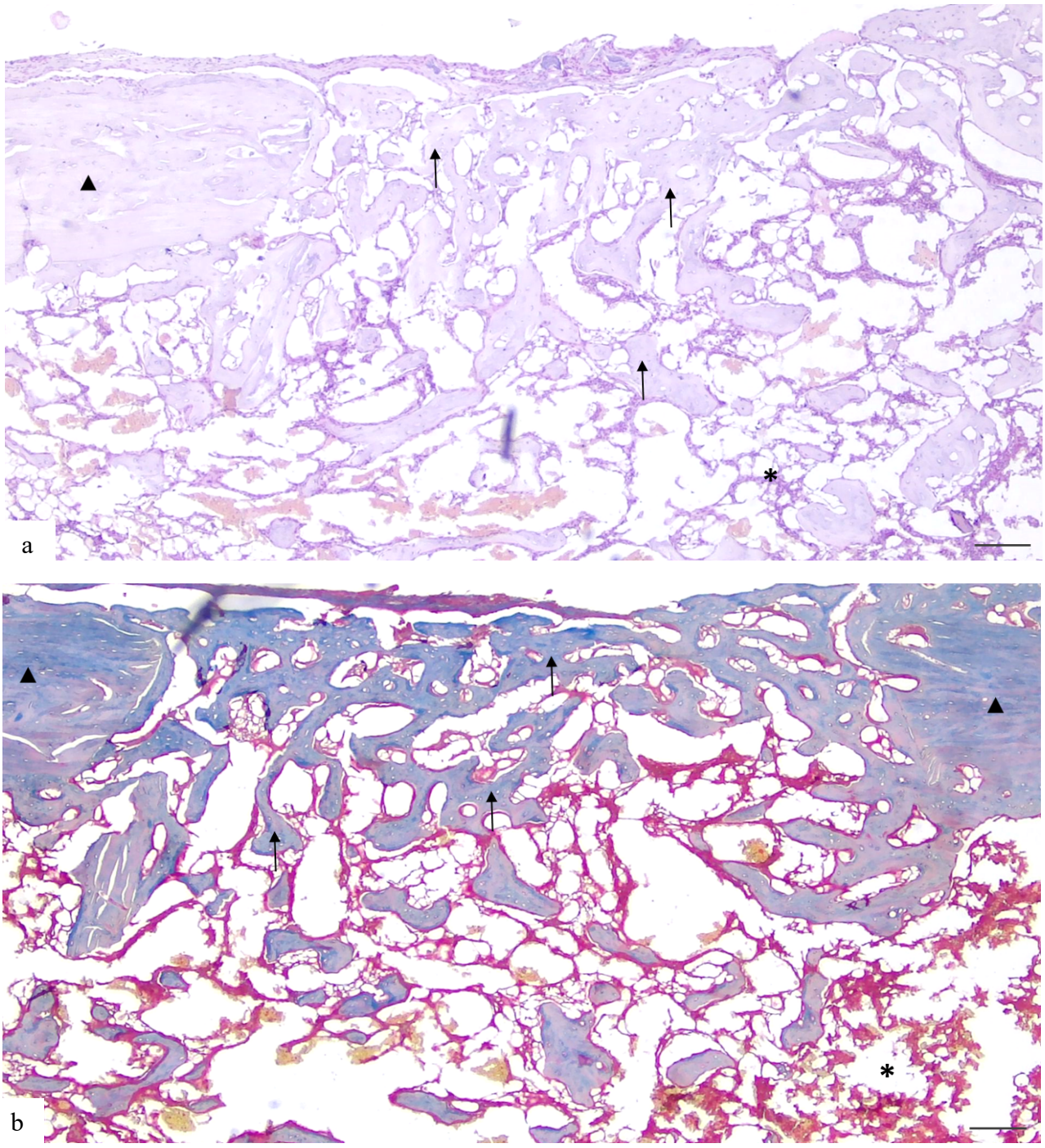


Рисунок 9 - Микрофотографии репрезентативных срезов костного дефекта через 14 дней после оперативного вмешательства в группе *АСГ*

Отмечаются признаки частичного восстановления непрерывности и частично толщины кортикальной пластинки. В зоне дефекта кортикальной пластинки определяется частичное заполнение новообразованной костной и хрящевой тканью (↑). Тонкие, местами неравномерно сформированные костные трабекулы анастомозируют между собой с формированием сети. Края исходного дефекта (▲) постепенно переходят новообразованную костную ткань. В межтрабекулярном и интрамедуллярном пространстве отмечается элементы

костного мозга (*). Окраска: (a) гематоксилин и эозин, x40; (b) трихром Массона, x40.

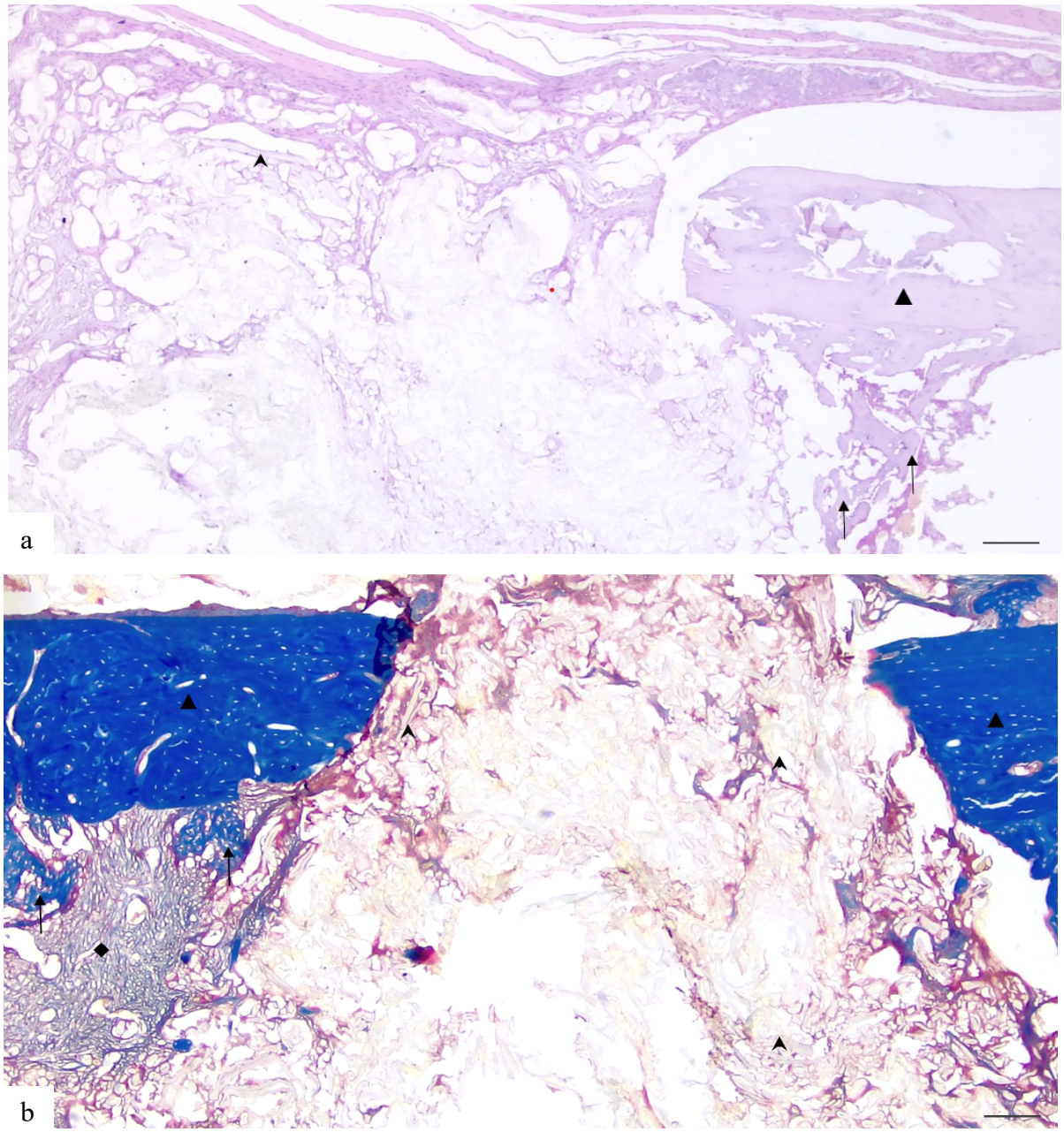


Рисунок 10 – Микрофотографии репрезентативных срезов регенерации костного дефекта через 14 дней после оперативного вмешательства в группе *НФЦ-1*: заполнение дефекта наноцеллюлозой как во внутрикостном пространстве, так и в зоне кортикальной пластинки

Отмечается заполнение дефекта кортикальной пластинки композитным материалом на освнове наноцеллюлозы, распространяющимся в интрамедуллярное пространство. В области краев дефекта кортикальной пластинки (▲) отмечается формирование новообразованной костной ткани, представленной тонкими костными балками (↑). При окраске по Массону по

периферии дефекта определяется фиброзная ткань, представленная пучками коллагеновых волокон (♦). Окраска: (a) гематоксилин и эозин, х40; (b) трихром Массона, х40.

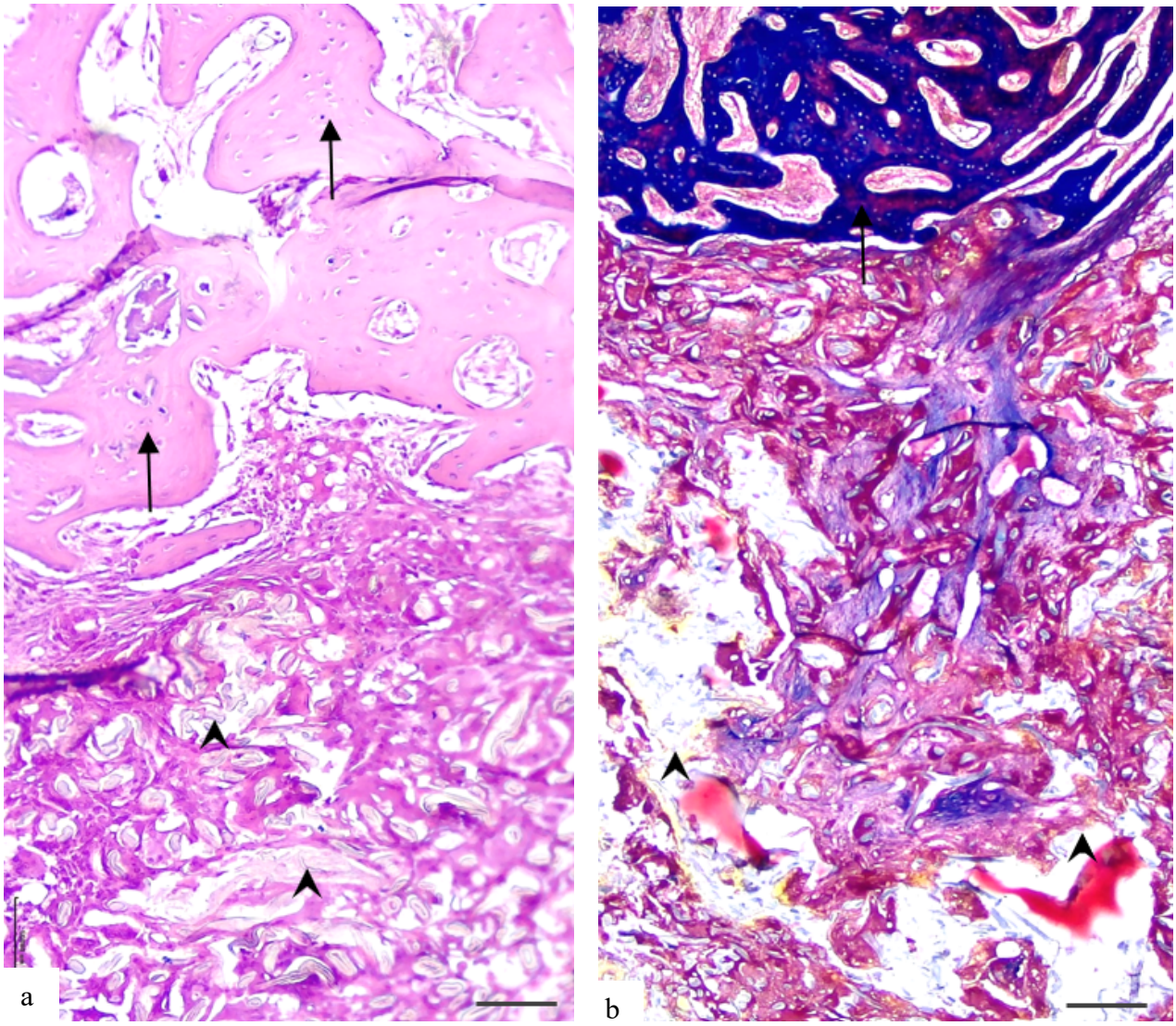


Рисунок 11 – Микрофотографии репрезентативных срезов регенерации костного дефекта через 14 дней после оперативного вмешательства в группе *НФЦ-2*: заполнение внутрикостного пространства наноцеллюлозой без заполнения дефекта кортикальной пластинки

В зоне дефекта определяются участки новообразованной костной ткани, представленные анастомозирующими костными трабекулами (↑). В интрамедуллярном пространстве под кортикальной пластинкой определяется композитный материал на основе наноцеллюлозы, окруженный рыхлой волокнистой соединительной тканью. Окраска: (a) гематоксилин и эозин, х100; (b) трихром Массона, х100.

Морфометрический анализ показал, что новообразованная костная ткань обеспечивала закрытие дефекта кортикальной пластинки на 58.3% (58.8 ± 15.1% по длине и 57.4 ± 13.9% по толщине). В межтрабекулярных пространствах определялась рыхлая соединительная ткань, представленная фибробластами, тонкими коллагеновыми волокнами и развитой сосудистой сетью. Помимо костной ткани, в зоне дефекта выявлялись участки хрящевой ткани (8.1 ± 3.9%) и участки соединительной ткани (34.0 ± 13.8%), образованные пучками коллагеновых волокон и фибробластами. В 3(37.5%) наблюдениях выявлялась незрелая ретикулофиброзная костная ткань с активным остеогенезом, в 5(62.5%) наблюдениях отмечалось сочетание активного остеогенеза и остеокластической активности. Признаков воспаления или некроза в исследуемых препаратах не выявлено. Гистологическая картина в группе *АСГ* через 30 суток после оперативного вмешательства характеризовалась развитием анастомозирующей трабекулярной сети, активной васкуляризацией межтрабекулярных пространств, частичным восстановлением структуры кортикальной пластинки.

В группе *НФЦ-1* в зоне дефекта кортикальной пластинки сохранялись признаки неполной репаративной регенерации костной ткани, характеризующиеся преобладанием в зоне дефекта композита (Таблица 2, Рисунок 13 a,b). Гистологически в области дефекта определялись фрагменты композитного материала, располагающиеся как в зоне кортикальной пластинки, так и в интрамедуллярном пространстве. Композит имел гетерогенную структуру, представленную фрагментами наноцеллюлозы и был окружён рыхлой волокнистой соединительной тканью, содержащей фибробласты, коллагеновые волокна и сосуды. По периферии дефекта отмечались очаги новообразованной костной ткани, представленные костными трабекулами различной толщины и протяжённости. Формирующиеся костные структуры характеризовались неравномерной толщиной и извилистым контуром. Морфометрический анализ показал, что новообразованная костная ткань обеспечивала закрытие дефекта кортикальной пластинки на 32.8%, составляя 22.3 ± 14.3% по длине и 42.3 ± 8.7% по толщине. Значительную часть дефекта составлял композитный материал на основе наноцеллюлозы, доля которого достигала 42.8%. Помимо этого, в зоне дефекта определялись участки хрящевой ткани (8.9%) и фиброзной соединительной ткани (15.6%). Фиброзная ткань была представлена пучками коллагеновых волокон с фибробластами, формирующимися преимущественно по периферии дефекта и вокруг фрагментов наноцеллюлозы. Качественная морфологическая оценка показала, что во всех наблюдениях (100%) в зоне дефекта преобладала ткань, отличная от костной. Признаков воспалительной реакции или некротических изменений в исследуемых микропрепаратах не отмечалось. Гистологическая картина в группе НФЦ-1 через 30 суток после оперативного вмешательства характеризуется преобладанием композитного материала в зоне дефекта, ограниченным формированием новообразованной костной ткани по периферии дефекта и умеренной соединительнотканной реакцией, неполной интеграцией новообразованной костной ткани с кортикальной пластинкой.

На 30-е сутки после оперативного вмешательства в группе НФЦ-2 в зоне дефекта кортикальной пластинки определялись морфологические признаки активной репаративной регенерации костной ткани, характеризующиеся значительным формированием новообразованной костной ткани и развитием хорошо организованной трабекулярной сети (Таблица 2, Рисунок 14 a,b). Гистологически в области дефекта определялись многочисленные участки новообразованной костной ткани, представленные анастомозирующими костными трабекулами различной толщины и протяжённости. Формирующиеся костные балки имели неравномерную толщину, извилистый контур и различную степень минерализации, местами соединялись между собой, формируя относительно плотную трабекулярную структуру, заполняющую большую часть дефекта кортикальной пластинки. Морфометрический анализ показал, что новообразованная костная ткань обеспечивала закрытие 87.8% дефекта кортикальной пластинки, составляя 88.9 ± 10.4% по длине и 86.3 ± 7.8% по толщине. Кроме того, выявлялись небольшие участки хрящевой ткани (3.6%) и соединительной ткани (9.0%). Качественная морфологическая оценка показала, что в 6(75%) случаях в микропрепаратах определялась незрелая ретикулофиброзная костная ткань с активным остеогенезом, в 2(25%) случаях определялась костная ткань, аналогичная исходной кортикальной кости. Признаков воспалительной реакции или некротических изменений в исследуемых микропрепаратах не выявлялось.Гистологическая картина в группе *НФЦ-2* характеризовалась интенсивным формированием новообразованной костной ткани, развитием плотной анастомозирующей трабекулярной сети, активной васкуляризацией межтрабекулярных пространств и практически полным восстановлением структуры кортикальной пластинки.

При морфометрическом анализе через 30 суток после оперативного вмешательства установлены выраженные различия закрытия дефекта кортикальной пластинки. Площадь новообразованной костной ткани в группе НФЦ-2 превышала АСГ в 1.5 раза ($p_2 = 0.001$). По сравнению с группой НФЦ-1 данный показатель был выше в 2,7 раза ($p_3=0.0001$). В группе АСГ наблюдалось закрытие дефекта, при этом степень формирования костной ткани превышала показатели группы НФЦ-1 в 1.8 раза ($p_1 = 0.001$).

При анализе репарации дефекта по длине и толщине установлено, что в группе НФЦ-1 сохранялось наименьшее закрытие дефекта, при этом значительная его часть оставалась заполненной некостными тканями. Площадь закрытия дефекта костной тканью по длине в группе НФЦ-2 был выше, чем в группе АСГ в 1.5 раза ($p_2 = 0.001$), выше чем в группе НФЦ-1 в 4 раза ($p_3=0,0001$). В группе АСГ закрытие дефекта по длине превышало НФЦ-1 в 2.6 раза ($p_1 = 0.001$). В группе НФЦ-2 закрытие дефекта по длине превышало АСГ в 1,5 раза ($p_2 = 0,001$), НФЦ-1 в 2 раза ($p_3 = 0.0001$). В группе АСГ закрытие дефекта по длине превышало НФЦ-1 в 1.4 раза, однако различия не достигли статистической значимости после применения поправки Бонферрони ($p_1 = 0.038$).

Доля хрящевой ткани во всех группах оставалась незначительной. В группе НФЦ-1 данный показатель не отличался от АСГ, превышая значения

группы НФЦ-2 в 2.5 раза (p_3 = 0.007). В группе АСГ доля хрящевой ткани превышала НФЦ-2 в 2.3 раза, различия статистически значимы (p_2 = 0.015). Доля фиброзной ткани была максимальной в группе АСГ, превышая показатели НФЦ-1 в 2.2 раза (p_1 = 0.003) и НФЦ-2 в 3.8 раза (p_2=0.0001). Между группами НФЦ-1 и НФЦ-2 отмечалось увеличение доли фиброзной ткани в группе НФЦ-1 в 1.7 раза, однако различия не достигли статистической значимости. Во всех исследованных группах признаков воспалительной реакции, некротических изменений или деструкции окружающих тканей выявлено не было.

Таблица 2 - Гистологическая и гистоморфометрическая оценка репаративной регенерации костного дефекта кортикальной пластинки через 30 суток после оперативного вмешательства

Характеристики	Группы		
	АСГ n = 8	НФЦ-1 n = 8	НФЦ-2 n = 8
1	2	3	4
Кортикальная пластинка			
Закрытие дефекта костной тканью			
По длине, %	58.8 ± 15.1 p_1=0.001 p_2=0.001	23.3 ± 14.3 p_3=0.0001	88.9 ± 10.4
По толщине, %	57.4 ± 13.9 p_1=0.038 p_2=0.001	42.3 ± 8.7 p_3=0.0001	86.3 ± 7.8
Закрытие дефекта прочими тканями			
Аутологичный сгусток крови/ композит, %	-	42.8 ± 3.6	-
Хрящевая ткань, %	8.1 ± 3.9 p_1=1.00 p_2=0.015	8.9 ± 4.7 p_3=0.007	3.6 ± 0.9
Фиброзная ткань, %	34.0 ± 13.8 p_1=0.003 p_2=0.0001	15.6 ± 6.5 p_3=0.021	9.0 ± 7.4
Качественная оценка костной ткани, n(%)			
костная ткань, аналогичная исходной кортикальной кости	-	0 (0)	2 (25.0)
пластинчатая (ламеллярная) или незрелая ретикулофиброзная (грубоволокнистая) кость с активным остеогенезом	3 (37.5)	0 (0)	6 (75.0)

Продолжение таблицы 2

1	2	3	4
пластинчатая (ламеллярная) или незрелая ретикулофиброзная (грубоволокнистая) кость с активным остеогенезом и остеокластической активностью	5 (62.5)	0 (0)	0 (0)
преобладает ткань, отличная от костной	-	8 (100)	0 (0)
воспаление	-	0 (0)	0 (0)
p - уровень статистической значимости; p_1 - различия между группами АСГ и НФЦ-1; p_2 - различие между группами АСГ и НФЦ-2; p_3 - различия между группами НФЦ-1 и НФЦ-2.			

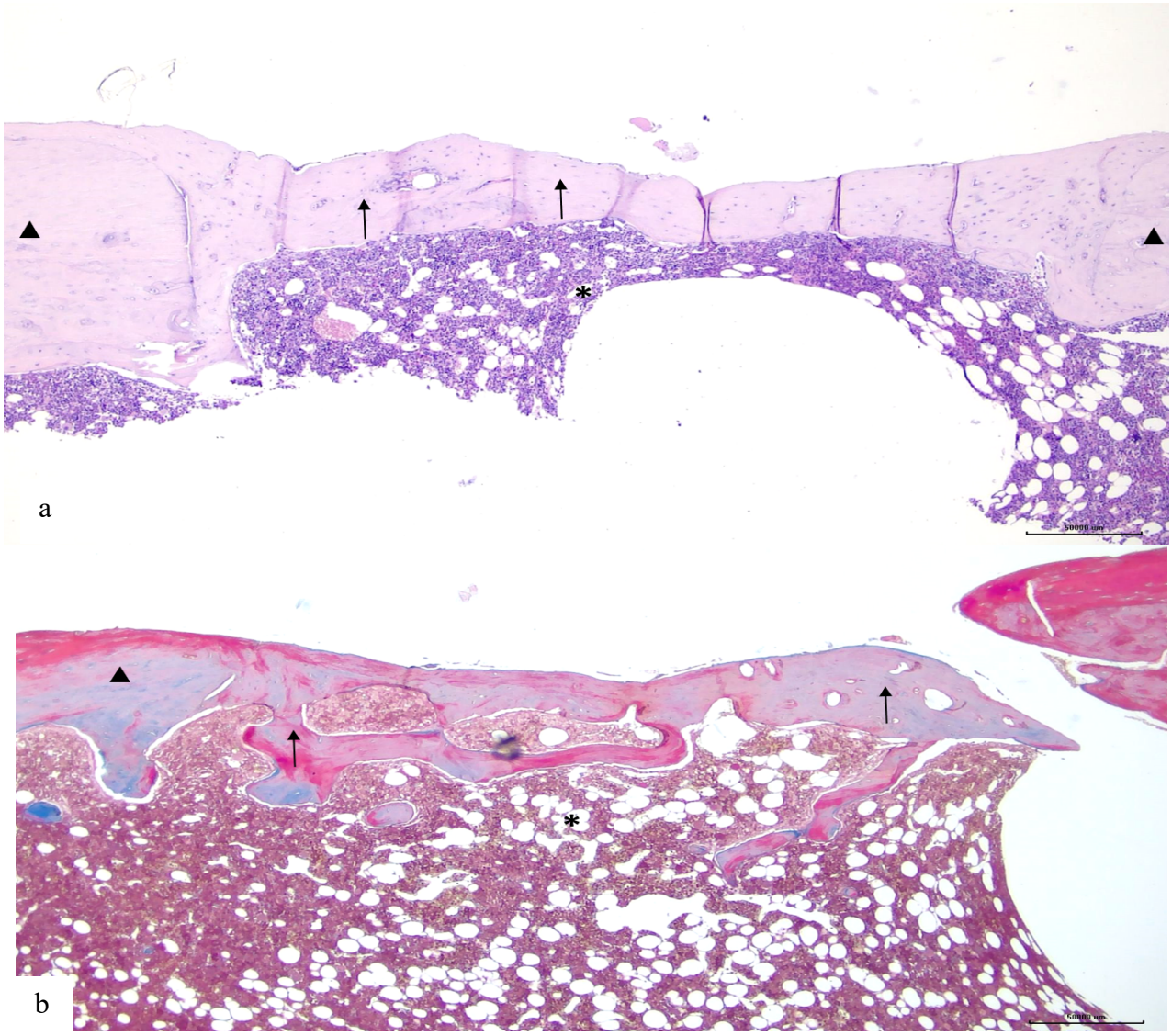


Рисунок 12 – Микрофотографии репрезентативных срезов костного дефекта через 30 дней после оперативного вмешательства в группе с аутологичным сгустком крови

Зона дефекта кортикальной пластинки частично заполнена новообразованной костной и хрящевой тканью (↑). Отмечается активный продольный рост новообразованных костных балок с полным восстановлением протяженности кортикальной пластинки и частичным восстановлением ее толщины (до 50%). Края дефекта (▲) представлены сохранённой кортикальной костной тканью с постепенным переходом в новообразованную костную ткань. В интрамедуллярном пространстве определяется костный мозг (*), что отражает нормальное ремоделирование интрамедуллярного пространства в проекции сформированного дефекта кортикальной пластинки с восстановлением нормальной анатомической структуры трубчатой кости. Окраска: (a) гематоксилин и эозин, x40; (b) трихром Массона, x40.

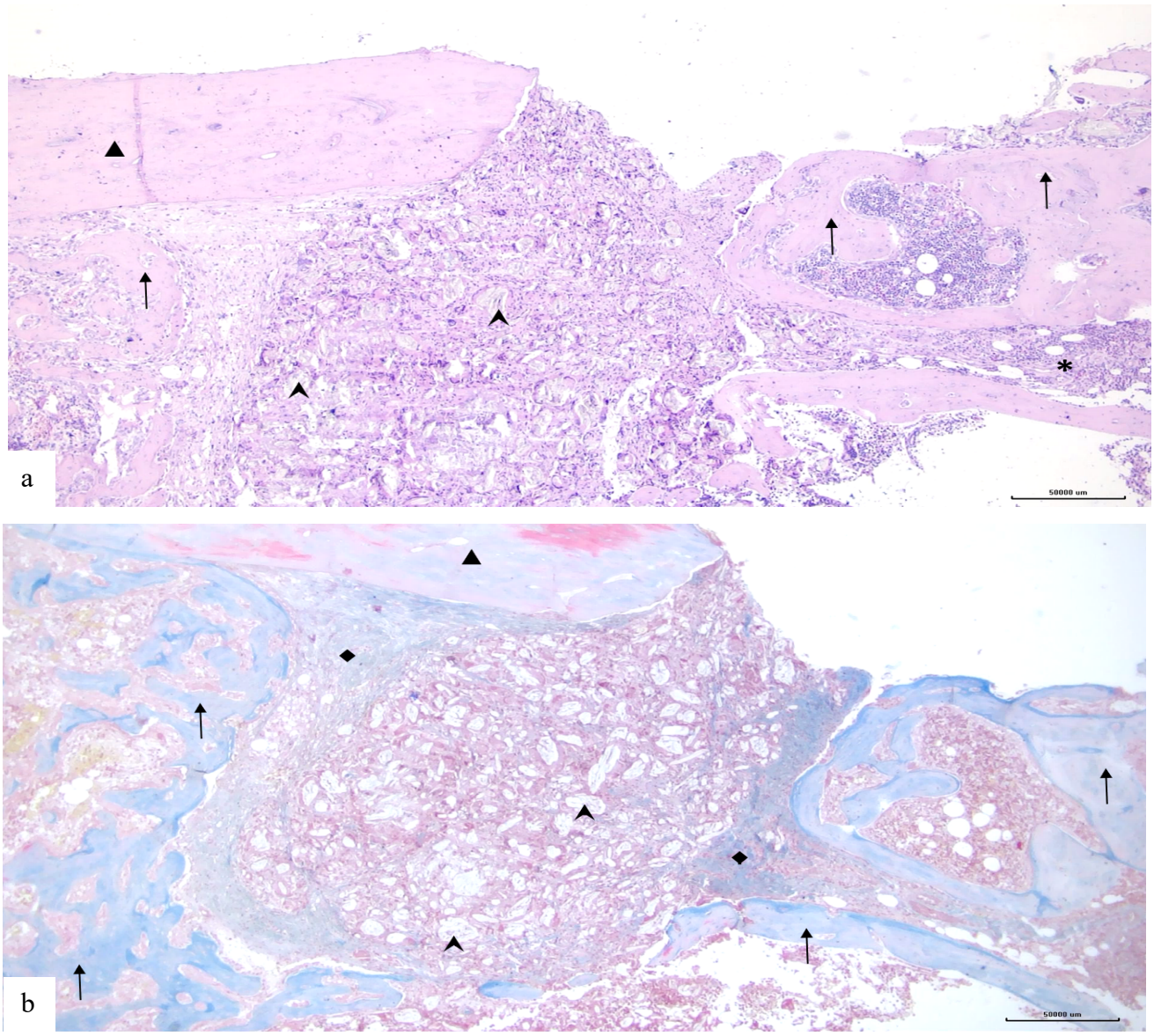


Рисунок 13 – Микрофотографии репрезентативных срезов регенерации костного дефекта через 30 дней после оперативного вмешательства в группе Н*ФЦ-1*: заполнение дефекта наноцеллюлозой как во внутрикостном пространстве, так и в зоне кортикальной пластинки

Отмечается относительно неравномерная регенерация части дефекта кортикальной пластинки с формированием новообразованной костной ткани (↑), представленной костными трабекулами различной толщины и протяженности, распространяющимися в интрамедуллярное пространство. Интеграция новообразованной костной ткани с краями кортикальной пластинки неполная. По краю дефекта определяется фиброзная ткань, представленная пучками коллагеновых волокон (♦). В кортикальной пластинке и интрамедуллярном пространстве определяются фрагменты композита (*наконечники стрелок*).
Окраска: (a) гематоксилин и эозин, x40; (b) трихром Массона, x40.

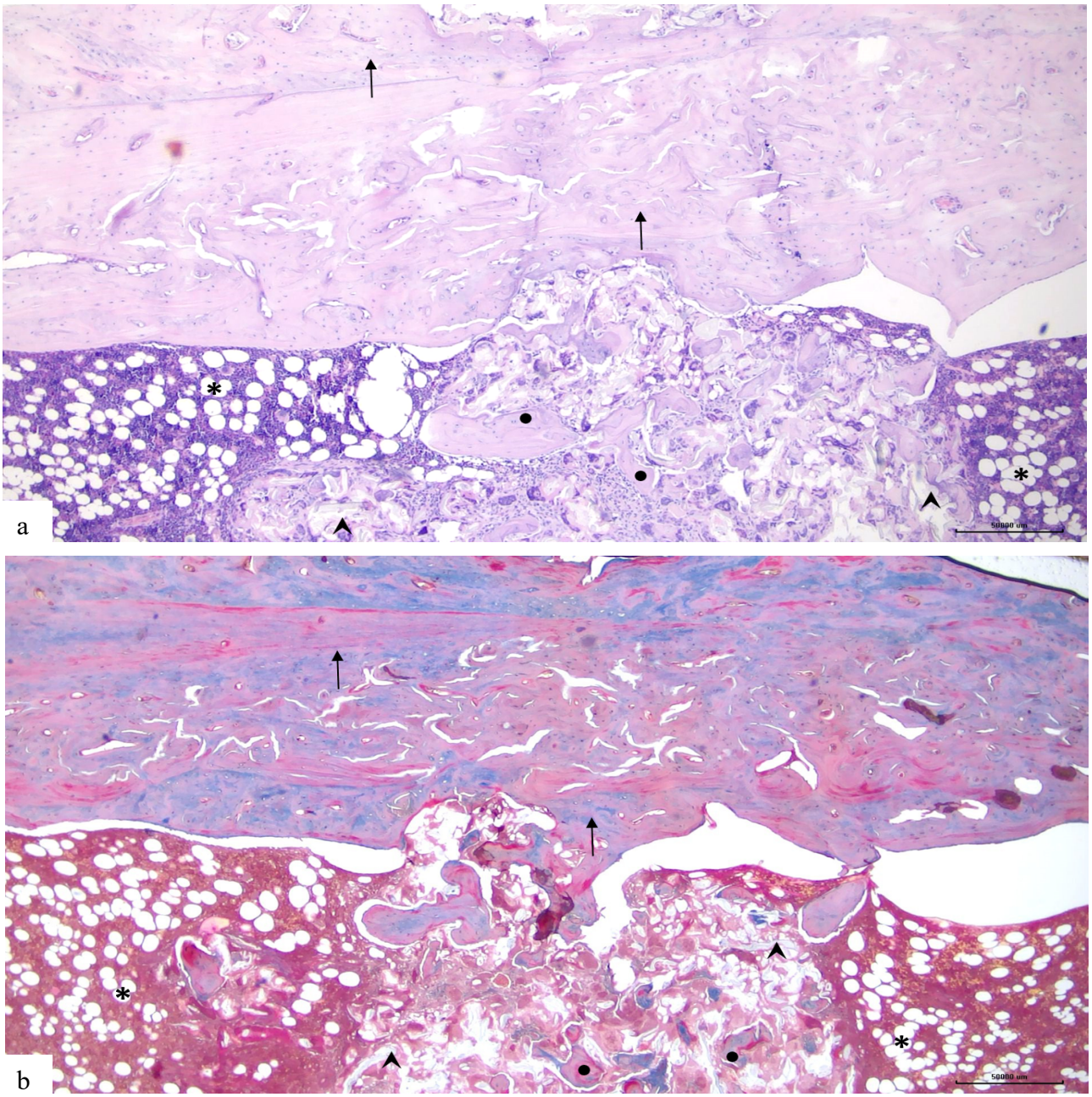


Рисунок 14 – Микрофотографии репрезентативных срезов костного дефекта через 30 дней после оперативного вмешательства в группе *НФЦ-2*: заполнение внутрикостного пространства наноцеллюлозой без заполнения дефекта кортикальной пластинки

Отмечается относительно равномерная регенерация до 100% площади дефекта кортикальной пластинки по всей его длине и толщине новообразованной костной тканью (↑). В интрамедуллярном пространстве под кортикальной пластинкой наблюдается композит на основе наноцеллюлозы (*наконечники стрелки*) с большим количеством костных трабекул (●) врастающих в композит по периферии и в центре. Окружающее интрамедуллярное пространство представлено костным мозгом преимущественно жирового типа (*): среди адипоцитов определяются клеточные элементы гемопоэтического ряда.
Окраска: (a) гематоксилин и эозин, x40; (b) трихром Массона, x40.

Гистологическая и гистоморфометрическая оценка репаративной регенерации костного дефекта кортикальной пластинки в группах исследования через 60 суток после оперативного вмешательства предоставлена в Таблице 3 и Рисунках 15-17.

На 60-е сутки после оперативного вмешательства в группе *АСГ* в зоне дефекта кортикальной пластинки определялись морфологические признаки завершающего этапа репаративной регенерации костной ткани, характеризующиеся восстановлением структуры кортикальной кости (Таблица 3, Рисунок 15 a,b). Гистологически в области дефекта выявлялась зрелая костная ткань, почти полностью замещающая дефект кортикальной пластинки. Новообразованная кортикальная пластинка характеризовалась организованной пластинчатой структурой с полной интеграцией новообразованной костной ткани с краями исходного дефекта. Морфометрический анализ показал, что площадь закрытия дефекта кортикальной пластинки новообразованной костной тканью составляла 93.1%, достигая 93.5 ± 3.5% по длине и 92.8 ± 5.1% по толщине. Качественная морфологическая оценка показала, что преимущественно 7(87.5%) формировалась пластинчатая или незрелая ретикулофиброзная костная ткань с активным остеогенезом, в 1 случае (12.5%) выявлялась костная ткань, аналогичная исходной кортикальной кости.

В группе *НФЦ-1* в зоне дефекта кортикальной пластинки сохранялись признаки неполной репаративной регенерации костной ткани, характеризующиеся относительно неравномерным формированием новообразованной костной ткани и сохранением композитного материала в области дефекта (Таблица 3, Рисунок 16 a,b). Во всех случаях контуры первоначального дефекта сохранялись, а восстановление кортикальной пластинки имело неполный и неравномерный характер. Новообразованная костная ткань располагалась преимущественно по краям дефекта, в центральной части дефекта содержался композитный материал на основе наноцеллюлозы, в котором фокально отмечались признаки миксоидной дегенерации. Незрелая костная ткань была представлена костными балками и трабекулами, имеющими неравномерную толщину, извилистый контур и неупорядоченное расположение. При окраске трихромом Массона новообразованная костная ткань окрашивалась в розово-красный цвет, с участками голубовато-синего окрашивания. Морфометрический анализ показал, что площадь закрытия дефекта кортикальной пластинки новообразованной костной тканью составляла 40.4%,

(33.8 ± 11.0% по длине и 47.0 ± 19.6% по толщине). Значительную часть дефекта занимал композитный материал (39.5%). Вокруг фрагментов композита определялась рыхлая волокнистая соединительная ткань. Помимо костной ткани, в зоне дефекта выявлялись участки хрящевой ткани (5.8 ± 3.3) и соединительной ткани (14.4±7.3%), представленной пучками коллагеновых волокон. Качественная морфологическая оценка показала, что во всех наблюдениях (100%) в зоне дефекта преобладала ткань, отличная от костной.

В группе *НФЦ-2* в зоне дефекта кортикальной пластинки выявлялись выраженные морфологические признаки завершающего этапа репаративной регенерации костной ткани, сопровождающиеся полным восстановлением кортикального слоя и формированием зрелого костного регенерата (Таблица 3, Рисунок 17 a,b). Гистологически в области дефекта определялась непрерывная новообразованная кортикальная пластинка, представленная костной тканью. Структура новообразованной кости характеризовалась переходом от ретикулофиброзной к более организованной ламеллярной костной ткани. Морфометрический анализ показал, что новообразованная костная ткань обеспечивала закрытие 93.9% дефекта кортикальной пластинки, составляя 92.6% по длине и 92.8% по толщине. В 5(62.5%) случаях выявлялась незрелая ретикулофиброзная костная ткань с активным остеогенезом, в 2 случаях (25%) определялась костная ткань, аналогичная исходной кортикальной кости.

При морфометрическом анализе через 60 суток после оперативного вмешательства установлены выраженные межгрупповые различия в степени закрытия дефекта кортикальной пластинки. Наиболее полное закрытие дефекта наблюдалось в группах АСГ и НФЦ-2, где показатели были сопоставимы. В количественном отношении площадь закрытия дефекта в группе АСГ превышала НФЦ-1 в 2.3 раза ($p_1 = 0.0001$). В группе НФЦ-2 данный показатель также превышал НФЦ-1 в 2.3 раза ($p_3 = 0.0001$). При анализе репарации дефекта по длине установлено, что АСГ превышал НФЦ-1 в 2.8 раза ($p_1 = 0.0001$), в группе НФЦ-2 - в 2.7 раза ($p_3 = 0.0001$). В группах АСГ и НФЦ-2 показатели закрытия дефекта по толщине были сопоставимы и превышали значения группы НФЦ-1 в 2 раза, различия статистически значимы ($p=0.001$).

Доля хрящевой ткани во всех исследуемых группах оставалась незначительной. В группе НФЦ-1 данный показатель превышал значения группы АСГ в 1.4 раза, НФЦ-2 в 1.7 раза однако различия не достигли статистической значимости. Показатель фиброзной ткани в группе НФЦ-1 превышал АСГ в 5 раз ($p_1 = 0,002$), НФЦ-2 - в 3,5 раза ($p_3 = 0,010$). Между группами АСГ и НФЦ-2 различия не были статистически значимыми ($p_2 = 0.505$). Гистологических признаков активного воспаления или некротических изменений, повреждения окружающих тканей не выявлено, что указывает на хорошую биосовместимость композита на основе наноцеллюлозы.

Таким образом, к 60-м суткам наиболее зрелая и структурно организованная костная ткань формируется в группе НФЦ-2, группа АСГ характеризуется продолжающимся ремоделированием, а в группе НФЦ-1 сохраняется отсутствие полноценной костной регенерации.

Таблица 3 - Гистологическая и гистоморфометрическая оценка репаративной регенерации костного дефекта кортикальной пластинки через 60 суток после оперативного вмешательства

Характеристики,%	Группы		
	АСГ n = 8	НФЦ-1 n = 8	НФЦ-2 n = 8
Кортикальная пластинка			
Закрытие дефекта костной тканью			
По длине, %	93.5 ± 3.5 p_1=0.0001 p_2=0.574	33.8 ± 11.0 p_3=0.0001	92.6 ± 3.4
По толщине, %	92.8 ± 5.1 p_1=0.001 p_2=1.00	47.0 ± 19.6 p_3=0.001	92.8 ± 4.8
Закрытие дефекта прочими тканями			
Аутологичный сгусток крови/ композит, %	-	39.5 ± 9.0	-
Хрящевая ткань, %	4.0 ± 1.5 p_1=0.328 p_2=0.279	5.8 ± 3.3 p_3=0.130	3.4 ± 3.0
Фиброзная ткань, %	2.9 ± 0.8 p_1=0.002 p_2=0.505	14.4 ± 7.3 p_3=0.010	4.1 ± 3.4
Качественная оценка костной ткани, n(%)			
костная ткань, аналогичная исходной кортикальной кости	1 (12.5)	0 (0)	3 (50.0)
пластинчатая (ламеллярная) или незрелая ретикулофиброзная (грубоволокнистая) кость с активным остеогенезом	7 (87.5)	0 (0)	5 (0)
пластинчатая (ламеллярная) или незрелая ретикулофиброзная (грубоволокнистая) кость с активным остеогенезом и остеокластической активностью	0 (0)	0 (0)	0 (0)
преобладает ткань, отличная от костной	0 (0)	8 (100	0 (0)
воспаление	0 (0)	0 (0)	0 (0)

p - уровень статистической значимости;
p_1 - различия между группами АСГ и НФЦ-1;
p_2 - различие между группами АСГ и НФЦ-2;
p_3 - различия между группами НФЦ-1 и НФЦ-2.

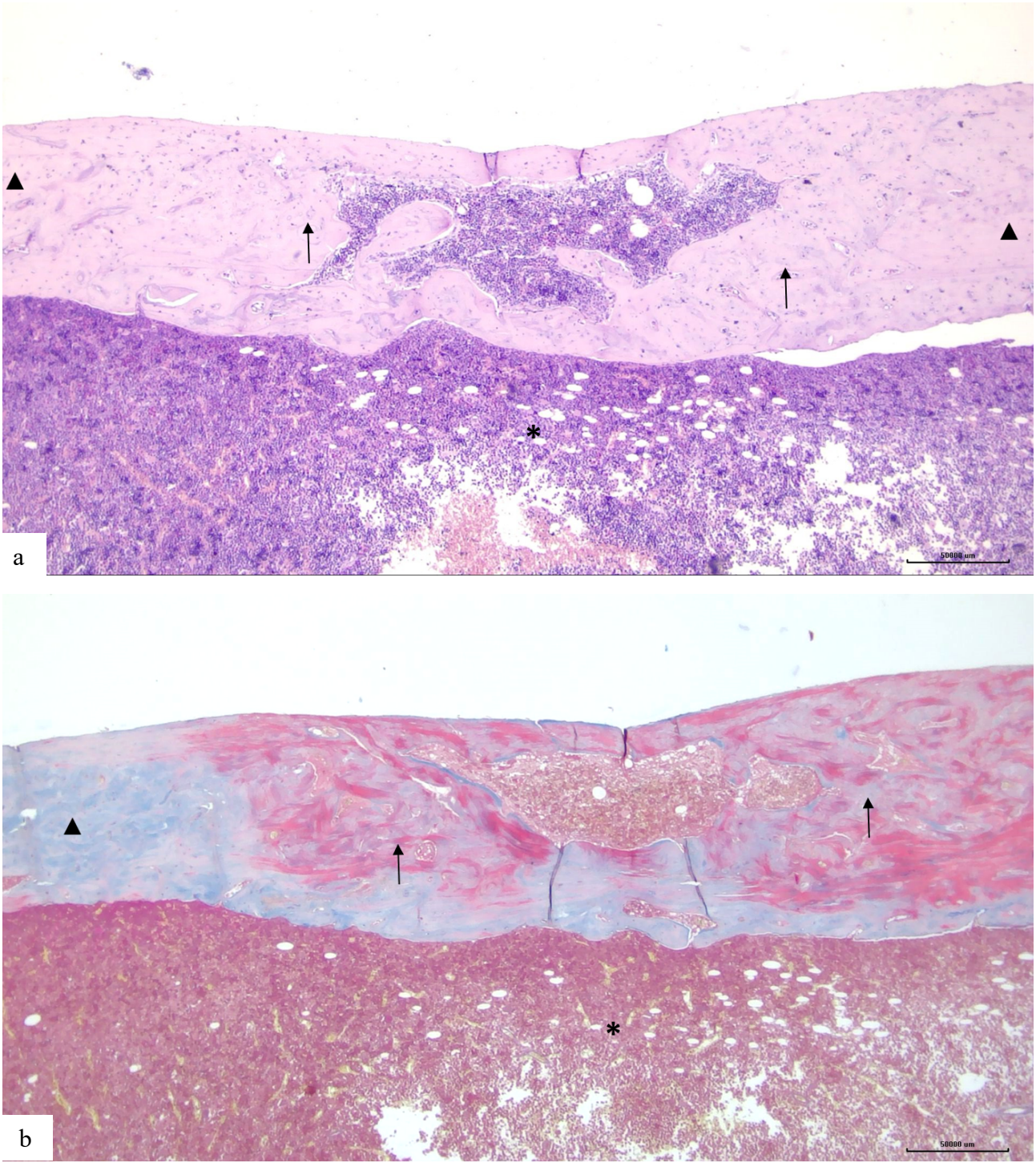


Рисунок 15 - Микрофотографии репрезентативных срезов регенерации костного дефекта через 60 дней после оперативного вмешательства в группе *с* аутологичным сгустком крови

В зоне дефекта определяется новообразованная костная ткань (↑), частично замещающая дефект кортикальной пластинки. Толщина новообразованной кортикальной пластинки сопоставима с прилежащими интактными участками кости (▲). В интрамедуллярном пространстве определяется зрелый костный мозг (*). Морфологическая картина свидетельствует о восстановлении

нормальной гистоархитектоники кости. Окраска: (a) гематоксилин и эозин, x40; (b) трихром Массона, x40.

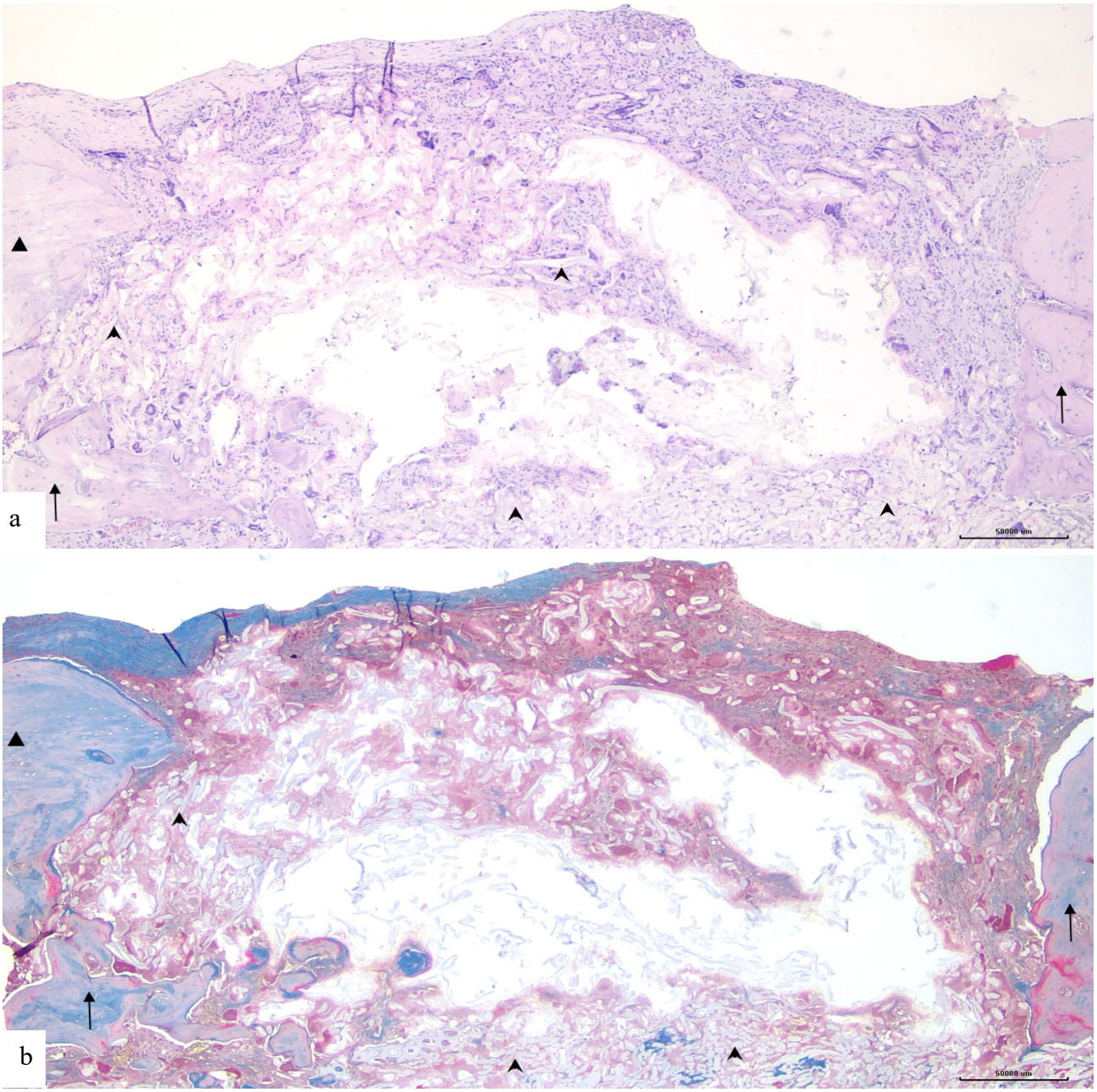


Рисунок 16 - Микрофотографии репрезентативных срезов регенерации костного дефекта через 60 дней после оперативного вмешательства в группе *НФЦ-1*

Отмечается частичная и относительно неравномерная регенерация костной ткани. Контуры первоначального дефекта сохраняются, отмечается неполная репарация кортикального слоя с формированием отдельных участков новообразованной костной ткани преимущественно по периферии дефекта. В зоне дефекта определяется наноцеллюлозный композит с участками миксоидной дегенерации. По периферии дефекта определяются очаги новообразованной костной ткани (↑), представленной преимущественно незрелой костью,

формирующейся в виде отдельных неупорядоченных костных балок и трабекул различной толщины, окрашивающихся трихромом Массона в розовы-красный цвет с участками голубого цвета. Волокна коллагена в зоне регенерации располагаются неравномерно и дезорганизовано. Окраска: (a) гематоксилин и эозин, x40; (b) трихром Массона, x40.

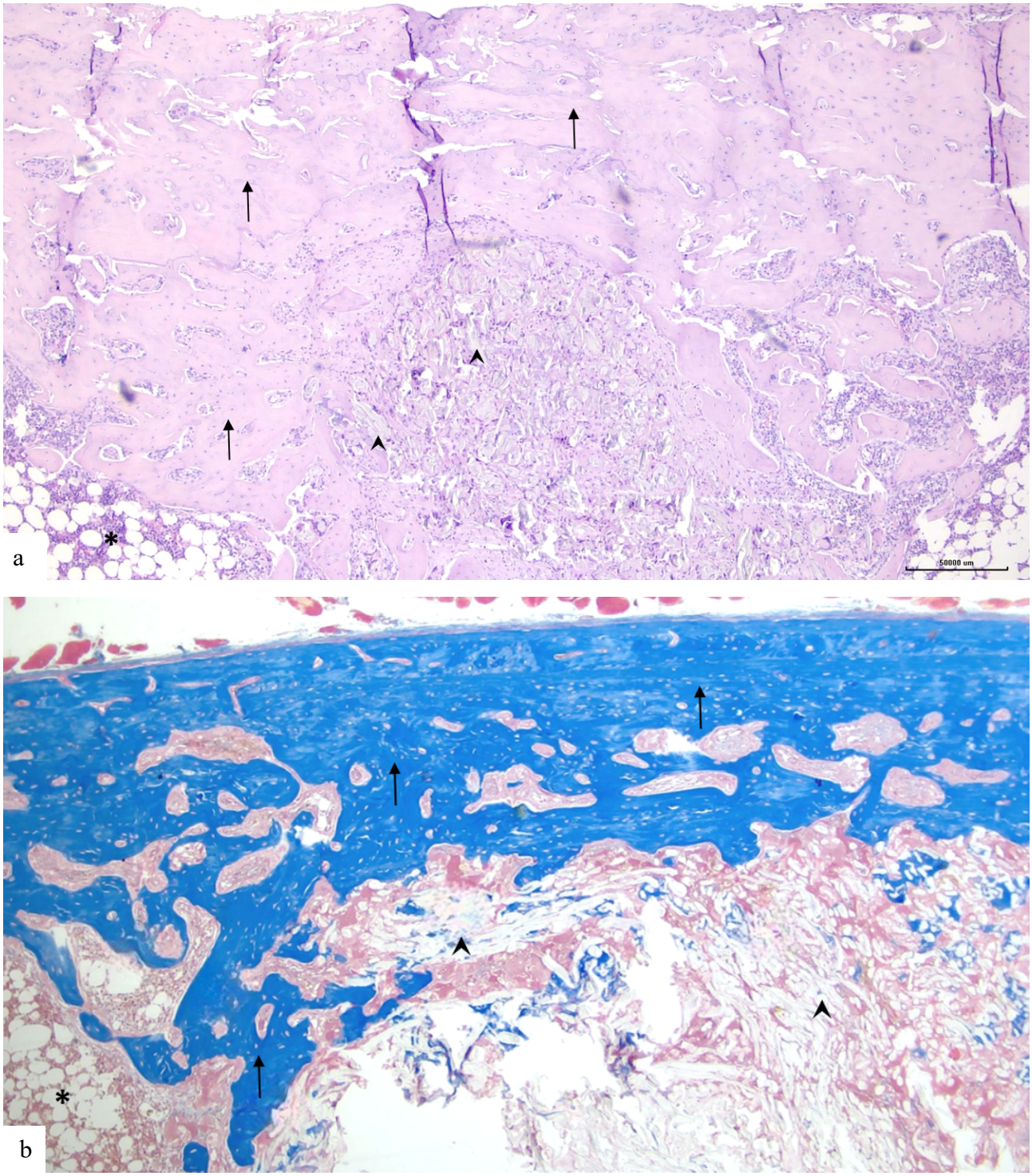


Рисунок 17 - Микрофотографии репрезентативных срезов регенерации костного дефекта через 60 дней после оперативного вмешательства в группе *НФЦ-2*

Определяется полное восстановление кортикальной пластинки, представленной непрерывной новообразованной костной тканью, достигающей до 90% площади исходного дефекта как по длине, так и по толщине (↑). Новообразованная кость характеризуется относительно равномерной структурой с постепенной интеграцией в края дефекта. Под восстановленной кортикальной пластинкой в интрамедуллярном пространстве определяется композит наноцеллюлозы (*наконечники стрелок*). По периферии композита определяются новообразованные костные трабекулы, частично распространяющиеся от периферии вглубь композита. Окраска: (a) гематоксилин и эозин, x40; (b) трихром Массона, x40.

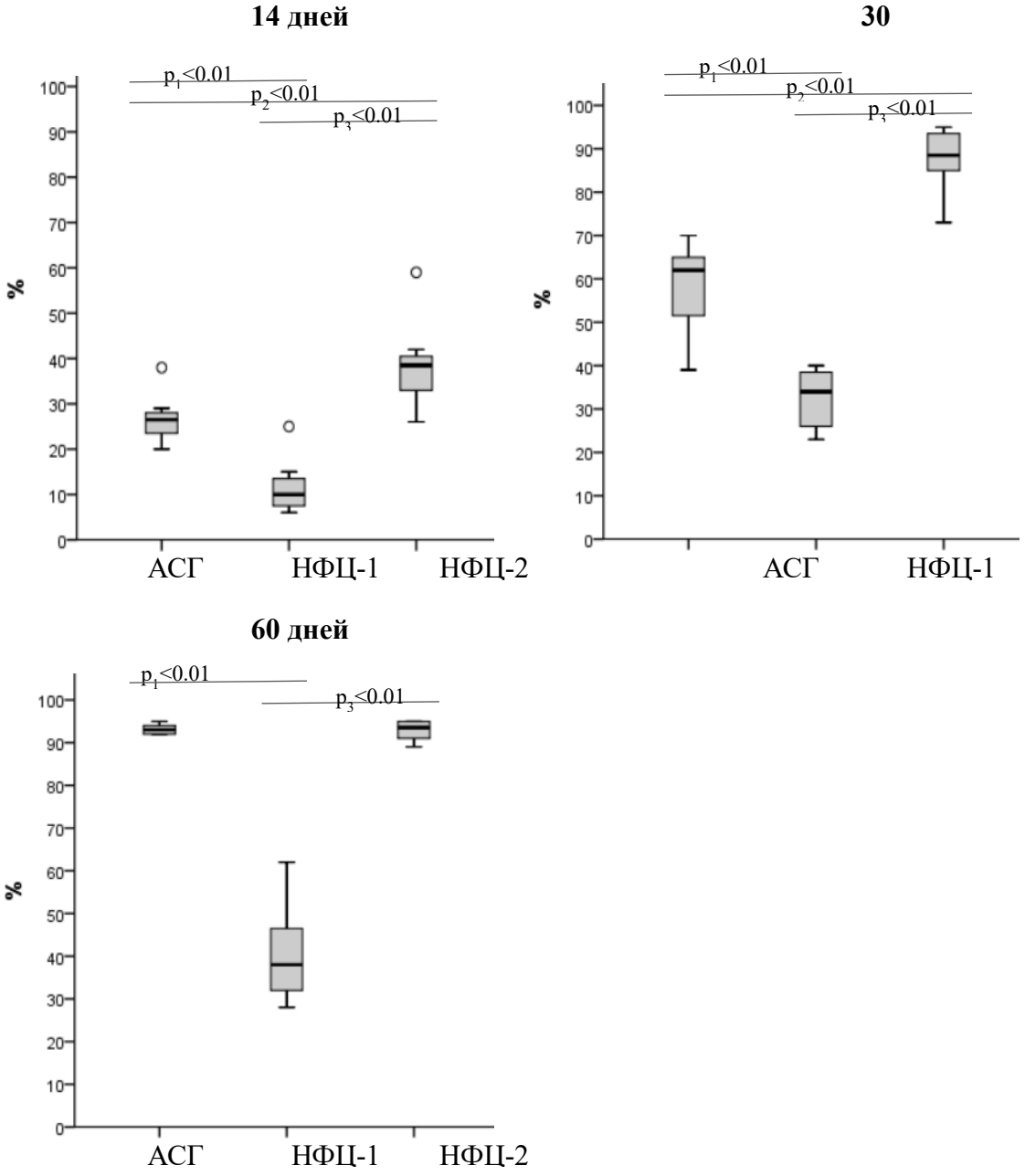


Рисунок 18 - Закрытие костного дефекта кортикальной пластинки новообразованной костной тканью на 14, 30, 60 сутки

p_1<0,01 - статистически значимое различие между группами АСГ и НФЦ-1;
p_2<0,01 - статистически значимое различие между группами АСГ и НФЦ-2;
p_3<0,01 - статистически значимое различие между группами НФЦ-1 и НФЦ-2.

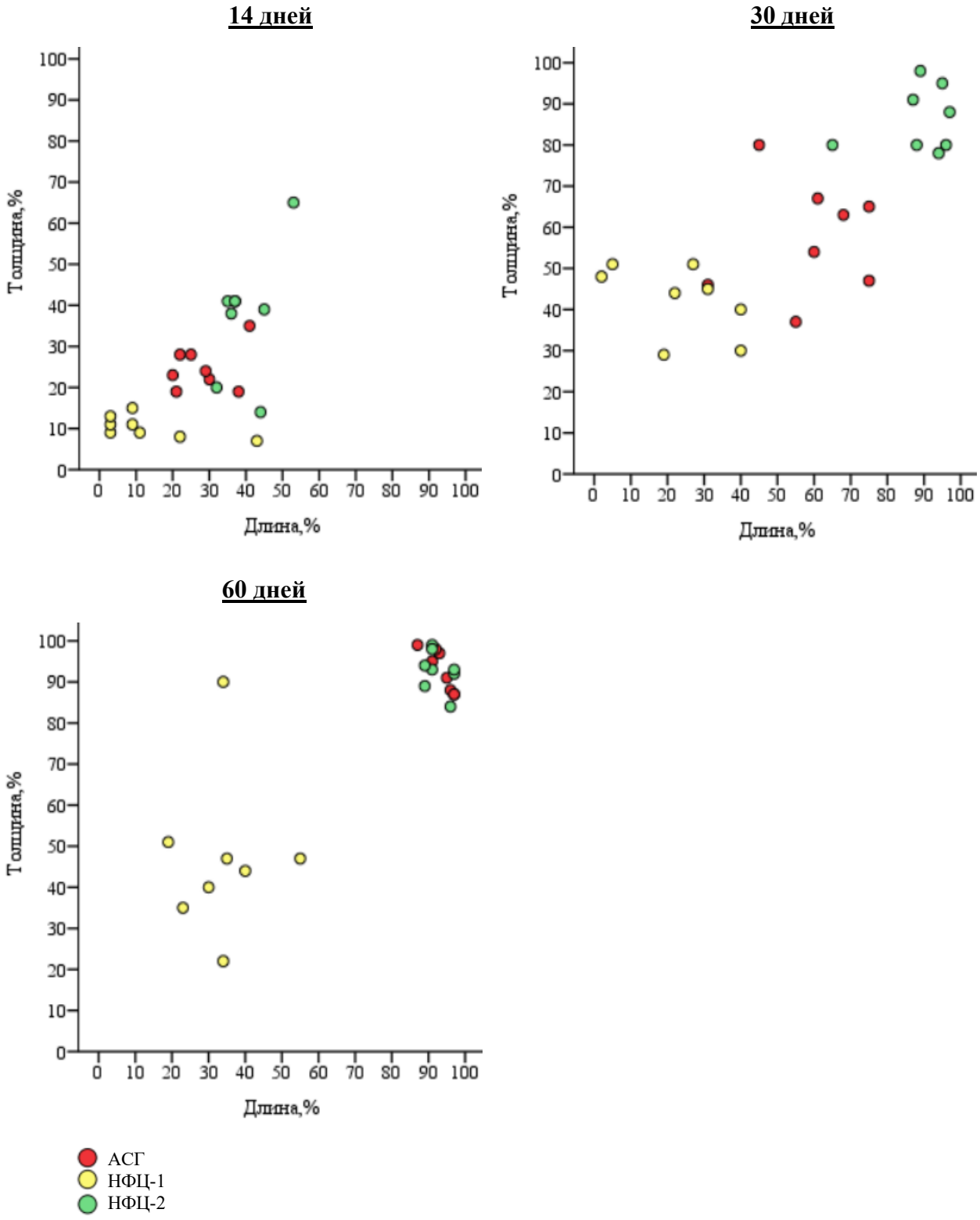


Рисунок 19 - Закрытие костного дефекта кортикальной пластинки новообразованной костной тканью на 14, 30, 60 сутки

К 30-м суткам во всех группах отмечалось увеличение объёма новообразованной костной ткани. Наиболее выраженная положительная динамика сохранялась в группе НФЦ-2, где площадь закрытия дефекта превышала значения группы НФЦ-1 в 2.7 раза и группы АСГ - в 1.5 раза. В группе АСГ наблюдалось значительное увеличение объёма костной ткани с признаками активного ремоделирования. В группе НФЦ-1 остеогенез оставался менее выраженным, с сохранением значительной доли материала композита.

Через 60 суток в группах АСГ и НФЦ-2 достигалось практически полное закрытие дефекта костной тканью, площади закрытия дефекта новообразованной костью становились сопоставимыми и превышали значения группы НФЦ-1 в 2.3 раза. Формирующаяся костная ткань приобретала более организованную зрелую структуру. В группе НФЦ-1 сохранялось неполное закрытие дефекта и преобладание материалов композита.

Таким образом, репаративная регенерация костного дефекта кортикальной пластинки носит стадийный характер и сопровождается последовательным увеличением площади и зрелости костной ткани, а также снижением доли хрящевой и фиброзной ткани. На ранних сроках во всех группах преобладала незрелая костная ткань с выраженными признаками ремоделирования и прогрессирующее замещение дефекта костной тканью с формированием более организованной структуры. Наиболее благоприятная динамика регенерации отмечалась в группе НФЦ-2, где уже на ранних этапах наблюдалось более интенсивное костеобразование, а к поздним срокам - формирование зрелой костной ткани, сопоставимой с исходной кортикальной пластинкой. В группе АСГ регенерация также протекала активно, однако характеризовалась более длительным этапом ремоделирования. В группе НФЦ-1 на всех сроках сохранялось отставание процессов остеогенеза, сопровождающееся преобладанием композита и неполным закрытием дефекта (Рисунок 18,19).

3.1.2 Оценка ремоделирования/резорбции композита и тканевого состава интрамедуллярного пространства

Гистологическая и гистоморфометрическая оценка ремоделирования/резорбции композита и тканевого состава интрамедуллярного пространства в группах НФЦ-1 и НФЦ-2 через 14 суток после оперативного вмешательства представлена в таблице 5.

На 14-е сутки после оперативного вмешательства в группе *НФЦ-1* в интрамедуллярном пространстве определялся композитный материал на основе наноцеллюлозы (до 17% площади интрамедуллярного пространства в проекции дефекта). По периферии фрагментов определялась новообразованная костная ткань, занимающая до 18.6%, представленная преимущественно тонкими трабекулами ретикулофиброзного типа, формирующимися со стороны краёв дефекта и распространяющимися на периферии композитного материала. Образующиеся костные балки характеризовались вариабельной толщиной и неоднородной степенью минерализации. Помимо костной ткани, в интрамедуллярном пространстве выявлялись очаги хрящевой ткани (8.6%) и

соединительной ткани (8.1%). Большую часть интрамедуллярного пространства составлял костный мозг (47.5%), представленный жировыми клетками и клетками гемопоэтического ряда.

Морфологическая оценка резорбции композита выявила признаки умеренно выраженной клеточно-опосредованной деструкции материала. В зоне контакта композита с окружающими тканями определялись локальные участки фиброзной ткани, не формирующие выраженной капсулы (1.4 ± 0,5 балла). Ткань в межфрагментарных пространствах композита была представлена преимущественно васкуляризированной фиброзной соединительной тканью, содержащей многочисленные клеточные элементы и сосуды микроциркуляторного русла (0.9 ± 0.4 балла). Вокруг фрагментов наноцеллюлозы выявлялось умеренное количество многоядерных гигантских клеток инородных тел (1.4 ± 0.5 балла). В центральной части композита признаки ремоделирования отсутствовали, в периферической зоне отмечались начальные признаки реминерализации и ремоделирования с замещением композита новообразованной костной тканью (0.8±0.5 балла). Общая площадь ремоделирования составляла 2.9 ± 2.1 %. Морфологическая картина в группе НФЦ-1 через 14 суток после оперативного вмешательства характеризуется сохранением значительного объёма композитного материала, формированием новообразованной костной ткани преимущественно по периферии дефекта, а также наличием соединительнотканных и хрящевых тканей в интрамедуллярном пространстве. Выявляемая гигантоклеточная реакция и признаки ремоделирования композита выражены умеренно, преимущественно в периферической части композита.

В группе *НФЦ-2* в интрамедуллярном пространстве определялось значительное количество композитного материала на основе наноцеллюлозы, занимающего до 20.5 ± 8.5 % от площади интрамедуллярного пространства. По периферии композитных фрагментов и в прилежащих отделах интрамедуллярного пространства выявлялись участки новообразованной костной ткани, занимающей 26.9 ± 10.5 %. Формирующаяся костная ткань была представлена костными трабекулами различной толщины, преимущественно ретикулофиброзного строения. Помимо костной ткани, в интрамедуллярном пространстве определялись очаги хрящевой ткани (8.4%), а также участки фиброзной соединительной ткани (8.1%), образованной пучками коллагеновых волокон и фибробластами. Значительную часть интрамедуллярного пространства занимал костный мозг (33.9%), представленный жировыми клетками и клеточными элементами гемопоэтического ряда. Морфологическая оценка резорбции композита выявила признаки умеренно выраженной клеточно-опосредованной деструкции материала. В зоне контакта композита с окружающими тканями определялись участки фиброзной ткани без формирования выраженной капсулы (1.8 ± 0.5 балла). Ткань в межфрагментарных пространствах композита была представлена преимущественно васкуляризированной соединительной тканью.

Таблица 5 - Гистологическая и гистоморфометрическая оценка ремоделирования/резорбции композита и тканевого состава интрамедуллярного пространства через 14 суток после оперативного вмешательства

Характеристики	Группы		
	АСГ n = 8	НФЦ-1 n = 8	НФЦ-2 n = 8
Интрамедуллярное пространство			
Тканевой состав			
Аутологичный сгусток крови/ композит, %	-	17.1 ± 10.7 p_3=0.328	20.5 ± 8.5
Костная ткань, %	5.1 ± 3.4 p_1=0.001 p_2=0.0001	18.6 ± 6.0 p_3=0.195	26.9 ± 10.5
Хрящевая ткань, %	4.1 ± 2.5 p_1=0.050 p_2=0.005	8.6 ± 4.6 p_3=0.959	8.4 ± 1.3
Фиброзная ткань, %	5.3 ± 2.5 p_1=0.105 p_2=0.007	8.1 ± 3.1 p_3=0.645	8.1 ± 1.0
Костный мозг, %	85.5 ± 6.6 p_1=0.0001 p_2=0.0001	47.5 ± 6.8 p_3=0.083	33.9 ± 16.4
Резорбция композита			
зона контакта композита с окружающими тканями	-	1.4 ± 0.5 p_3=0.234	1.8 ± 0.5
ткань в межфрагментарных пространствах композита	-	0.9 ± 0.4 p_3=0.721	0.8 ± 0.5
гигантоклеточная реакция	-	1.4 ± 0.5 p_3=0.721	1.5 ± 0.5
Ремоделирование композита			
центральное, n(%)	-	0.0 ± 0.0 p_3=0.442	0.3 ± 0.5
периферическое, n(%)	-	0.8 ± 0.5 p_3=0.442	1.0 ± 0.0
общее, %	-	2.9 ± 1.9 p_3=0.161	4.6 ± 2.6

p - уровень статистической значимости;
p_1 - различия между группами АСГ и НФЦ-1;
p_2 - различие между группами АСГ и НФЦ-2;
p_3 - различия между группами НФЦ-1 и НФЦ-2.

Выявлялось умеренное количество многоядерных гигантских клеток инородных тел, локализующихся вокруг частиц композитного материала (1.5 ± 0.5 балла). В центральной зоне композита признаки ремоделирования составляли 4.6 ± 2.4 %. Морфологическая картина в группе НФЦ-2 через 14 суток после оперативного вмешательства характеризуется развитием трабекулярной сети вокруг композитного материала.

Наибольшая доля костной ткани отмечалась в группе НФЦ-2, где данный показатель превышал значения группы АСГ более чем в 5 раз ($p_2<0.0001$) и группы НФЦ-1 - в 1.4 раза, различия между НФЦ-1 и НФЦ-2 не достигли статистической значимости ($p_3 = 0.195$). В группе НФЦ-1 содержание костной ткани превышало АСГ в 3.6 раза ($p_1<0.001$).

Доля хрящевой ткани в группе НФЦ-1 превышала значения группы АСГ в 2.1 раза, в группе НФЦ-2 - в 2 раза, при этом статистически значимые различия отмечались только между АСГ и НФЦ-2 ($p_2 = 0.005$). Доля фиброзной ткани было сопоставимым в группах НФЦ-1 и НФЦ-2, превышая показатели группы АСГ в 1.5 раза, статистически значимые различия выявлены только между АСГ и НФЦ-2 ($p_2 = 0.007$).

В группах НФЦ-1 и НФЦ-2 определялось присутствие композита (17.1% и 20.5% соответственно), при этом различия между ними не были статистически значимыми ($p_3 = 0,328$).

Анализ процессов резорбции композита показал, что выраженность реакции в зоне контакта с окружающими тканями и в межфрагментарных пространствах была сопоставимой в группах НФЦ-1 и НФЦ-2, без статистически значимых различий. Ремоделирование композита носило начальный характер. В группе НФЦ-2 отмечалась тенденция к более выраженному общему ремоделированию (4,6% против 2,9% в группе НФЦ-1), однако различия не достигли статистической значимости ($p_3 = 0.161$).

Гистологическая и гистоморфометрическая оценка ремоделирования /резорбции композита и тканевого состава интрамедуллярного пространства в группах НФЦ-1 и НФЦ-2 через 30 суток после оперативного вмешательства представлена в таблице 6.

На 30-е сутки после оперативного вмешательства в группе *НФЦ-1* при морфологическом исследовании интрамедуллярного пространства в пределах проекции дефекта кортикальной пластинки выявлялось значительное присутствие композитного материала на основе наноцеллюлозы, составлявшего до 18.4% площади анализируемой зоны. Композит располагался главным образом в прилежащей к дефекту части интрамедуллярного пространства, отграничивался от интрамедуллярного пространства новообразованной костной тканью и был представлен полупрозрачными фрагментами различной формы с признаками миксоидной дегенерации. На периферии композита определялись участки формирующейся костной ткани, составлявшие 30.3% исследуемой площади. Новообразованная кость была представлена тонкими костными балками ретикулофиброзного строения, которые формировались преимущественно со стороны краёв дефекта и распространялись в направлении

композитного материала, окружая его по периферии. Помимо новообразованной кости в интрамедуллярной полости выявлялись очаги хрящевой ткани (19.1 ± 2.2%) и фиброзной соединительной ткани (13.1 ± 3.4%), представленной коллагеновыми волокнами и фибробластическими клетками. В зоне контакта композита с окружающими тканями в большинстве 6(75%) наблюдений отмечалось наличие костных трабекул с наличием остеобластов и остеокластов на поверхности композита. В 2 образцах (25%) отмечалось наличие локализованной фиброзной ткани, не организованной в капсулу. Между отдельными фрагментами композита располагалась рыхлая васкуляризированная соединительная ткань, содержащая большое количество клоеток и сосудов микроциркуляторного русла. Определялось умеренное число многоядерных гигантских клеток инородных тел, располагающихся вокруг частиц композитного материала. Признаки структурного ремоделирования в центральных участках материала изменения не выявлялись, тогда как в периферических отделах наблюдались начальные проявления его взаимодействия с окружающими тканями и фокального замещения новообразованной костью в 3(37.5%) случаях. Средняя площадь новообразованной кости в толще композита составляла 3.4%. Морфологическая картина интрамедуллярного пространства в группе НФЦ-1 через 30 суток после оперативного вмешательства характеризуется сохранением значительного объёма композитного материала с развитием ранних очагов остеогенеза вокруг его фрагментов, а также наличием хрящевого и соединительнотканного компонентов в интрамедуллярном пространстве. Наличие гигантоклеточной реакции и начальных признаков перестройки материала свидетельствует о начале деградации и резорбции композита.

В группе *НФЦ-2* в проекции дефекта кортикальной пластинки выявлялось значительное количество композитного материала на основе наноцеллюлозы, занимающего до 19% площади. Вокруг фрагментов композита определялись участки новообразованной костной (42.4%), хрящевой (7.5%), соединительной ткани (8.3%) и зрелый костный мозг, содержащий адипоциты и клетки гемопоэтического ряда. В зоне контакта композита с окружающими тканями в большинстве 7(87.5%) наблюдений преобладали костные трабекулы с наличием остеобластов и остеокластов на поверхности композита, в 1 наблюдении (12.5%) отмечалось фокальное наличие фиброзной ткани без образования капсулы. Между частицами наноцеллюлозы располагалась рыхлая соединительная ткань, содержащая большое количество гигантских многоядерных клеток инородного тела (2 балла) и микрососудов. Признаки ремоделирования композита были выражены слабо: в центральных отделах материала они отмечались 3(37.5%) наблюдениях (0.3 ± 0.5 балла), в периферической зоне во всех 8(100%) случаях фиксировались очаги новообразованной костной ткани (1 балл). Средняя площадь новообразованной кости составляла 9.6%.

Таблица 6 - Гистологическая и гистоморфометрическая оценка ремоделирования /резорбции композита и тканевого состава интрамедуллярного пространства через 30 суток после оперативного вмешательства

Характеристики	Группы		
	АСГ n = 8	НФЦ-1 n = 8	НФЦ-2 n = 8
Интрамедуллярное пространство			
Тканевой состав			
Аутологичный сгусток крови / композит, %	-	18.4 ± 9.2 p_3=0.645	19.0 ± 5.5
Костная ткань, %	5.0 ± 1.2 p_1=0.0001 p_2=0.0001	30.3 ± 2.1 p_3=0.105	42.4 ± 16.7
Хрящевая ткань, %	2.6 ± 2.2 p_1=0.0001 p_2=0.005	19.1 ± 2.2 p_3=0.0001	7.5 ± 2.9
Фиброзная ткань, %	1.4 ± 2.1 p_1=0.0001 p_2=0.0001	13.1 ± 3.4 p_3=0.007	8.3 ± 1.9
Костный мозг, %	91.0 ± 3.4 p_1=0.0001 p_2=0.0001	19.1 ± 10.9 p_3=0.645	22.9 ± 13.4
Резорбция композита			
зона контакта композита с окружающими тканями	-	2.8 ± 0.5 p_3=0.721	2.9 ± 0.4
ткань в межфрагментарных пространствах композита	-	1.0 ± 0.0 p_3=1.00	1.0 ± 0.0
гигантоклеточная реакция	-	1.8 ± 0.5 p_3=0.442	2.0 ± 0.0
Ремоделирование композита			
центральное, n(%)	-	0.3 ± 0.5 p_3=0.721	0.4 ± 0.5
периферическое, n(%)	-	1.0 ± 0.0 p_3=1.00	1.0 ± 0.0
общее, %	-	3.4 ± 1.9 p_3=0.001	9.6 ± 3.2

p - уровень статистической значимости;
p_1 - различия между группами АСГ и НФЦ-1;
p_2 - различие между группами АСГ и НФЦ-2;
p_3 - различия между группами НФЦ-1 и НФЦ-2.

Таким образом, наибольшая доля костной ткани отмечалась в группе НФЦ-2, где данный показатель превышал значения группы АСГ в 8.5 раза (p_2<0.0001) и группы НФЦ-1 - в 1,4 раза, однако различия между НФЦ-1 и НФЦ-2 не достигли статистической значимости (p_3 = 0.105). В группе НФЦ-1 площадь костной ткани превышало АСГ в 6.1 раза (p_1<0.0001). Доля хрящевой ткани в группе НФЦ-1 превышала значения группы АСГ в 7.3 раза, группы НФЦ-2 - в 2.5 раза, различия статистически значимы (p<0.001). В группе НФЦ-2 содержание хрящевой ткани превышало АСГ в 2.9 раза, различия статистически значимы (p_2 = 0.005). Содержание фиброзной ткани было максимальным в группе НФЦ-1, где данный показатель превышал значения группы АСГ в 9.4 раза (p_1 = 0,0001) и группы НФЦ-2 - в 1,6 раза (p_3=0.007). В группе НФЦ-2 содержание фиброзной ткани превышало АСГ в 5.9 раз (p<0.001). Наибольшая доля костного мозга сохранялась в группе АСГ, где данный показатель превышал значения группы НФЦ-1 в 4.8 раза и группы НФЦ-2 в 4 раза, различия статистически значимы (p<0.001). Между группами НФЦ-1 и НФЦ-2 статистически значимых различий не выявлено (p_3 = 0.645). В группах НФЦ-1 и НФЦ-2 сохранялось присутствие композита (18.4% и 19% соответственно), при отсутствии статистически значимых различий между ними (p_3 = 0.645).

Анализ резорбции композита показал сопоставимую выраженность процессов в зоне контакта с окружающими тканями, межфрагментарных пространствах и по уровню гигантоклеточной реакции в группах НФЦ-1 и НФЦ-2 (p_3 > 0.05). Ремоделирование композита было более выражено в группе НФЦ-2, превышая значения группы НФЦ-1 в 2.8 раза (p_3 = 0.001).

Гистологическая и гистоморфометрическая оценка ремоделирования /резорбции композита и тканевого состава интрамедуллярного пространства в группах НФЦ-1 и НФЦ-2 через 60 суток после оперативного вмешательства представлена в таблице 7.

На 60-е сутки после оперативного вмешательства в группе НФЦ-1 при морфологическом исследовании интрамедуллярного пространства в пределах проекции дефекта кортикальной пластинки сохранялось значительное количество композитного материала на основе наноцеллюлозы, составлявшее в среднем 15.9% площади анализируемой зоны. В непосредственной близости от фрагментов композитного материала выявлялись участки новообразованной костной ткани, занимающей в среднем до 38.0% исследуемой площади. Костная ткань была представлена костными трабекулами преимущественно ретикулофиброзного строения, формирующимися со стороны краёв дефекта и распространяющимися в направлении композитного материала, частично окружая его. Помимо костной ткани в интрамедуллярном пространстве определялись участки хрящевой ткани (10.0 ± 8.5%) и фиброзной соединительной ткани (11.1 ± 5.1%). Значительную часть исследуемой области занимал костный мозг, представленный адипоцитами и клетками гемопоэтического ряда.

Таблица 7 - Гистологическая и гистоморфометрическая оценка ремоделирования/резорбции композита и тканевого состава интрамедуллярного пространства через 60 суток после оперативного вмешательства

Характеристики	Группы		
	АСГ n = 8	НФЦ-1 n = 8	НФЦ-2 n = 8
Интрамедуллярное пространство			
Тканевой состав			
Аутологичный сгусток крови/ композит, %	-	15.9 ± 10.3 p_3=0.328	17.5 ± 4.8
Костная ткань, %	0 p_1=0.0001 p_2=0.0001	38.0 ± 9.9 p_3=0.130	46.0 ± 12.2
Хрящевая ткань, %	0 p_1=0.007 p_2=0.0001	10.0 ± 8.5 p_3=1.00	8.1 ± 1.2
Фиброзная ткань, %	0 p_1=0.0001 p_2=0.0001	11.1 ± 5.1 p_3=0.442	9.8 ± 1.9
Костный мозг, %	100 p_1=0.0001 p_2=0.0001	25.0 ± 13.9 p_3=0.279	18.6 ± 12.5
Резорбция композита			
зона контакта композита с окружающими тканями	-	3.0 ± 0.0 p_3=0.442	2.8 ± 0.5
ткань в межфрагментарных пространствах композита	-	1.3 ± 0.5 p_3=0.442	1.3 ± 0.0
гигантоклеточная реакция	-	1.9 ± 0.4 p_3=0.130	2.4 ± 0.5
Ремоделирование композита			
центральное, n(%)	-	0.3 ± 0.5 p_3=0.442	0.5 ± 0.5
периферическое, n(%)	-	1.0 ± 0.0 p_3=1.00	1.0 ± 0.0
общее, %	-	5.9 ± 2.2 p_3=0.021	11.5 ± 5.1

p - уровень статистической значимости;
p_1 - различия между группами АСГ и НФЦ-1;
p_2 - различие между группами АСГ и НФЦ-2;
p_3 - различия между группами НФЦ-1 и НФЦ-2.

При морфометрической оценке процессов резорбции композитного материала в зоне его контакта с окружающими тканями во всех 8(100%) случаев отмечалась ремоделируемая костная ткань с остеобластами и/или остеокластами на поверхности. В межфрагментарных пространствах композита выявлялась рыхлая васкуляризированная соединительная ткань содержащая большое количество клеток и сосуды микроциркуляторного русла. При оценке гигантоклеточной реакции определялось умеренное количество многоядерных гигантских клеток инородных тел, локализованных вокруг фрагментов композитного материала. Признаки структурного ремоделирования композита на данном сроке были выражены умеренно. В центральных участках материала они отмечались в 2(25%) случаях (0.3 ± 0.5 балла), тогда как в периферических отделах во всех 8(100%) наблюдениях фиксировались очаги взаимодействия композита с новообразованной костной тканью (1.0 ± 0.0 балла). Общая площадь новообразованной костной ткани, связанной с процессами ремоделирования композита, составляла 5.9 ± 2.2%.

В группе *НФЦ-2* в проекции дефекта кортикальной пластинки также определялось значительное количество композитного материала на основе наноцеллюлозы, занимавшего в среднем 17.5% площади интрамедуллярного пространства. Вокруг фрагментов композита выявлялись трабекулы новообразованной костной ткани (46%), а также хрящевой (8.1%) и фиброзной соединительной ткани (9.8%). Оставшуюся часть интрамедуллярной полости занимал костный мозг (18.6%), представленный жировыми элементами и клетками гемопоэтического ряда. При морфометрической оценке резорбции композита отмечались признаки выраженной клеточно-опосредованной деструкции. В зоне контакта композита с окружающими тканями отмечалась ремоделируемая костная ткань с остеобластами и/или остеокластами на поверхности, тогда как в межфрагментарных пространствах композита выявлялась рыхлая соединительная ткань (1.3 ± 0.0 балла). Гигантоклеточная реакция составляла 2.4 ± 0.5 балла, что проявлялось многочисленными в 3(37.5%) и умеренными 5(62.5%) многоядерными гигантскими клетками инородных тел вокруг фрагментов композитного материала. Признаки ремоделирования композитного материала отмечались в 4(50%) наблюдениях в центральных (0.5 ± 0.5 балла), так и в 8(100%) наблюдениях в периферических (1.0 ± 0.0 балла) отделах композита. Средняя площадь новообразованной костной ткани, ассоциированной с процессами ремоделирования композита, составляла 11.5 ± 5.1%, что было статистически значимо выше по сравнению с группой НФЦ-1 ($p = 0.021$). Морфологическая картина интрамедуллярного пространства в группе НФЦ-2 через 60 суток после оперативного вмешательства характеризуется выраженным формированием костной ткани и активными процессами ремоделирования композитного материала.

При морфометрическом анализе интрамедуллярного пространства через 60 суток после оперативного вмешательства сохранялись выраженные межгрупповые различия в тканевом составе. В группе АСГ костная ткань отсутствовала (0%), тогда как в группах НФЦ-1 и НФЦ-2 данный показатель

составлял 38% и 46% соответственно, различия статистически значимы при сравнении с АСГ ($p<0.001$). При этом в группе НФЦ-2 содержание костной ткани превышало показатели группы НФЦ-1 в 1.2 раза, однако различия не достигли статистической значимости ($p_3 = 0.130$). Хрящевая ткань и фиброзная ткань в группе АСГ отсутствовали (0%), тогда как в группах НФЦ-1 и НФЦ-2 сохранялись их остаточные количества, различия между ними не были статистически значимыми. Аналогичная тенденция отмечалась для фиброзной ткани (11.1% и 9.8% соответственно; $p_3 = 0.442$). В группах НФЦ-1 и НФЦ-2 сохранялось присутствие композита (15.9% и 17.5% соответственно), различия между НФЦ-1 и НФЦ-2 не были статистически значимыми ($p_3 = 0.328$).

Анализ резорбции композита показал сопоставимую выраженность процессов в зоне контакта с окружающими тканями, межфрагментарных пространствах и по уровню гигантоклеточной реакции в группах НФЦ-1 и НФЦ-2, без статистически значимых различий ($p_3 > 0.05$). Ремоделирование композита на данном сроке носило выраженный характер. В группе НФЦ-2 общий показатель превышал значения группы НФЦ-1 в 1.9 раза ($p_3 = 0.021$).

Таким образом, на 14-е сутки в группе АСГ преобладал костный мозг, тогда как в группах НФЦ-1 и НФЦ-2 отмечалось формирование регенерата с участием костной, хрящевой и фиброзной ткани. К 30-м суткам в группах НФЦ-1 и НФЦ-2 происходило существенное увеличение доли костной ткани (до 30.3% и 42.4% соответственно). В группе АСГ сохранялось доминирование костного мозга (91.0%) при минимальном содержании костной ткани (5,0%). Через 60 суток в группе АСГ восстановлена исходная структура интрамедуллярного пространства. В группах НФЦ-1 и НФЦ-2 доля костной ткани возрастала до 38% и 46% соответственно и уменьшении доли хрящевой и фиброзной ткани. На всех сроках в группах НФЦ-1 и НФЦ-2 сохранялось присутствие композита, сопровождающееся его постепенной резорбцией и ремоделированием. При этом в группе НФЦ-2 отмечалась более выраженная динамика перестройки материала.

3.2 Оценка рентгенологических изменений при применении биокомпозита для заполнения костных дефектов в исследуемых группах в сравнении с аутологичным сгустком крови.

В рамках экспериментального исследования проводилась динамическая оценка процессов репаративного остеогенеза у лабораторных животных в послеоперационном периоде. Для объективизации восстановления костной ткани всем животным в исследуемых группах на 14, 30 и 60-е сутки выполнялось рентгенологическое исследование. Под анестезией (Золетил 0,1 мг/кг, Virbac, США) во все указанные сроки проводили рентгенологическое обследование в Ветеринарной клинике травматологии и ортопедии доктора Крюкова (г. Караганда). Исследование выполнялось в двух стандартных проекциях, прямой и боковой, с использованием одного и того же рентгенографического оборудования, что обеспечивало сопоставимость полученных данных на всех этапах наблюдения.

Для количественной оценки динамики репаративного остеогенеза у экспериментальных животных применялась шкала Lane-Sandhu (Lane & Sandhu, 1987), являющаяся одной из наиболее распространённых систем для оценки степени заживления костных дефектов и переломов в экспериментальных моделях на мелких животных, включая крыс и мышей. Применимость данной шкалы в исследованиях на лабораторных животных подтверждена и валидирована в ряде работ [111].

Шкала Lane-Sandhu основана на визуальной оценке рентгенограмм по трём основным критериям, отражающим последовательные стадии репаративного остеогенеза: формирование костного мозоля, визуализация линии перелома (дефекта) и ремоделирование костной ткани. Каждый критерий оценивается по четырёхбалльной системе (0-4 балла), где 0 соответствует отсутствию признаков регенерации, а 4 полному восстановлению структуры и плотности костной ткани. Максимальное суммарное значение составляет 12 баллов, что соответствует полному рентгенологическому заживлению костного дефекта.

Таблица 8 - Критерии оценки по шкале Lane-Sandhu

Критерий	Баллы	Описание
Формирование костного мозоля	0-4	0 -мозоль отсутствует, контуры дефекта чёткие; 1 -едва заметная тень костного мозоля (до 25 % дефекта); 2 - умеренно выраженный мозоль (около 50 % дефекта), начальная минерализация; 3 - выраженный мозоль, заполняющий около 75 % дефекта; 4 - плотный мозоль полностью закрывает дефект.
Линия дефекта	0-4	0 -линия дефекта отчётливо видна; 1 - линия видна, но края частично размыты; 2 - контуры дефекта сглажены, линия видна фрагментарно; 3 - линия едва различима, непрерывность частично восстановлена; 4 -линия полностью отсутствует, дефект закрыт.
Ремоделирование кости	0-4	0 -ремоделирование отсутствует; 1 -начальные признаки уплотнения по краям дефекта; 2-частичное восстановление формы кости и костномозгового канала; 3 - выраженное ремоделирование, восстановление кортикального слоя; 4 - полное восстановление формы и структуры кости.

Оценку рентгенограмм проводили в слепом режиме двумя независимыми экспертами. Для каждого животного на каждом сроке наблюдения (14-е, 30-е и 60-е сутки) определяли баллы по каждому из критериев с последующим расчётом суммарного показателя. Балльные значения трактовались как порядковые данные. Для описания результатов использовали среднее значение и стандартное отклонение (M±SD), а статистическую значимость различий между независимыми группами оценивали с использованием критерия Манна-Уитни. Результаты представлены в таблице 9.

Таблица 9 - Результаты рентгенологической оценки консолидации костного дефекта по Lane-Sandhu у крыс

Срок	АСГ M±SD	НФЦ-1 M±SD	НФЦ-2 M±SD	p (межгрупповые сравнения)
14 сутки	3.2±0.7	4.0±0.5	4.2±0.5	p_1=0.065; p_2=0.015; p_3=0.505
30 сутки	4.0±1.1	6.2±0.9	7.1±0.6	p_1=0.002; p_2=0.001; p_3=0.055
60 сутки	5.3±0.9	7.0±0.5	8.2±0.4	p_1=0.002; p_2=0.0002; p_3=0.007
p_1 — статистическая значимость различий между группами АСГ и НФЦ-1; p_2 — статистическая значимость различий между группами АСГ и НФЦ-2; p_3 — статистическая значимость различий между группами НФЦ-1 и НФЦ-2				

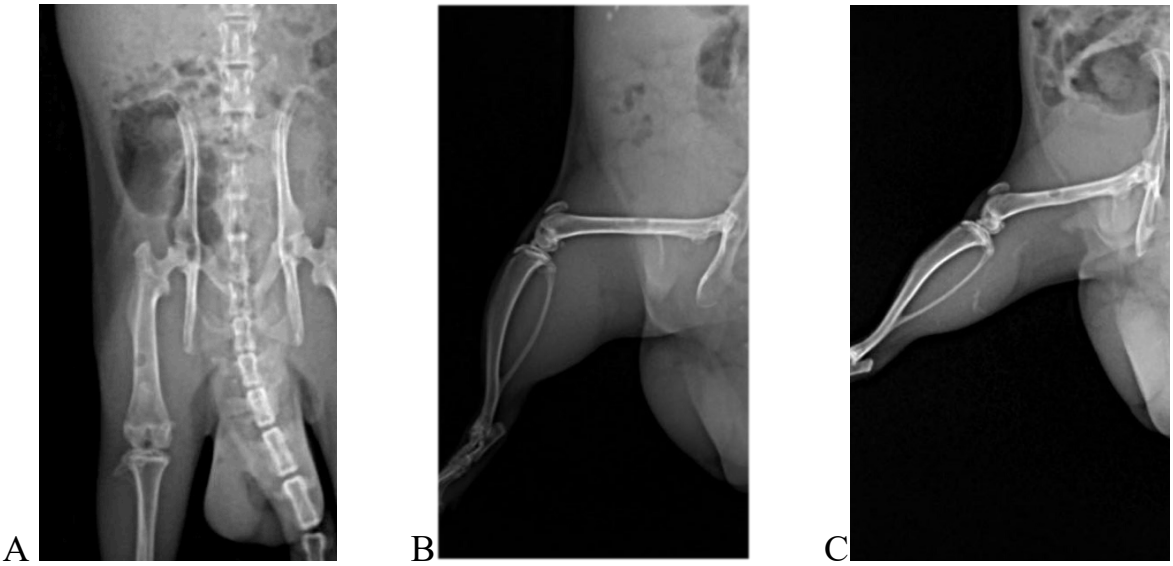
Интерпретация суммарного балла проводилась следующим образом:

- 0-3 балла - отсутствие рентгенологических признаков заживления;
- 4-7 баллов - частичное сращение, формирование костного мозоля и начальная минерализация;
- 8-10 баллов - выраженный остеогенез с признаками частичного ремоделирования;
- 11-12 баллов - полное рентгенологическое заживление дефекта с восстановлением структуры костной ткани.

На раннем этапе наблюдения (14-е сутки) во всех группах рентгенологически сохранялись рентгенопрозрачные участки дефекта. В группе АСГ дефект чётко визуализировался с сохранением контуров и минимальными признаками репаративного остеогенеза; средний рентгенологический балл составил 3,2±0,7. В группе НФЦ-1 отмечалось частичное заполнение дефекта с уменьшением чёткости его границ и ранними признаками формирования костного регенерата (4,0±0,5 балла). В группе НФЦ-2 наблюдались более выраженные признаки остеогенеза с формированием грубоволокнистой костной ткани в интрамедуллярной зоне, что соответствовало наиболее высоким рентгенологическим показателям (4,2±0,5 балла).

При межгрупповом сравнении по критерию Манна-Уитни, статистически значимые различия выявлены между группами АСГ и НФЦ-2 (p_2=0,015). Различия между группами АСГ и НФЦ-1 (p_1=0,065), а также НФЦ-1 и НФЦ-2 (p_3=0,505) не достигали статистической значимости. Полученные

данные свидетельствуют о более выраженных ранних рентгенологических признаках репаративного остеогенеза в группе НФЦ-2 уже на 14-е сутки наблюдения (рисунок 20).



А - дефект, заполненный АСГ, В - дефект, заполненный нанокомпозитом (НФЦ-1) с кортикальной локализацией, С- дефект, заполненный нанокомпозитом (НФЦ-2) только в интрамедуллярном пространстве

Рисунок 20 - Рентгенологическая картина заживления костного дефекта на 14-е сутки в различных группах

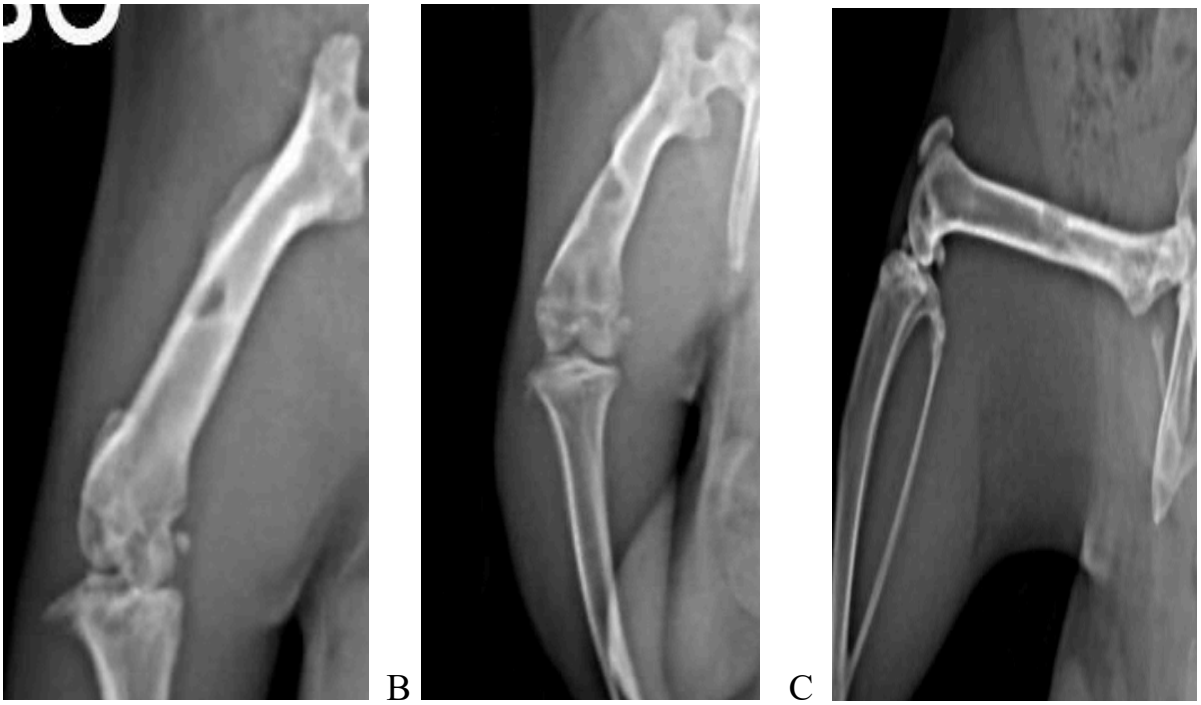
На 30-е сутки в группе НФЦ-2 отмечалось выраженное прогрессирование репаративного остеогенеза: дефекты были преимущественно заполнены костным регенератом, линия дефекта частично отсутствовала, а структура приближалась к зрелой костной ткани; средний рентгенологический балл составил 7,1±0,6. В группе НФЦ-1 регенерация была менее выраженной (6,2±0,9 балла), с сохранением участков незрелой костной ткани и элементов прежней линии дефекта. Группа АСГ продемонстрировала более медленную репарацию (4,0±1,1 балла).

Различия между группами НФЦ-2 и АСГ были статистически значимыми (p_2=0,001), как и между НФЦ-1 и АСГ (p_1=0,002), в том числе после применения поправки Бонферрони (уровень значимости $p<0,0167$), что свидетельствует о более выраженных рентгенологических признаках репаративной регенерации костной ткани при использовании биокомпозита на основе наноцеллюлозы. Различия между группами НФЦ-1 и НФЦ-2 носили пограничный характер (p_3=0,055), указывая на тенденцию к более выраженному остеогенезу при интрамедуллярном введении биокомпозита.

К 60-м суткам в группе НФЦ-2 рентгенологически определялось практически полное восстановление структуры костной ткани: дефекты были закрыты, плотность регенерата приближалась к интактной кости, формировался костномозговой канал (8,2±0,4 балла). В группе НФЦ-1 наблюдалась

выраженная ремоделировка с участками гомогенной костной ткани (7,0±0,5 балла). В группе АСГ сохранялись остаточные признаки дефекта с умеренной периостальной реакцией (5,3±0,9 балла).

На данном этапе сохранялись статистически значимые различия между группами НФЦ-2 и АСГ (p_2=0,0002), а также между НФЦ-2 и НФЦ-1 (p_3=0,007). Кроме того, статистически значимые различия выявлены между группами НФЦ-1 и АСГ (p_1=0,002). Все указанные межгрупповые различия сохраняли статистическую значимость после применения поправки Бонферрони, что подтверждает более выраженные рентгенологические признаки репаративной регенерации костной ткани при интрамедуллярном применении биокомпозита НФЦ-2 (рисунок 21).

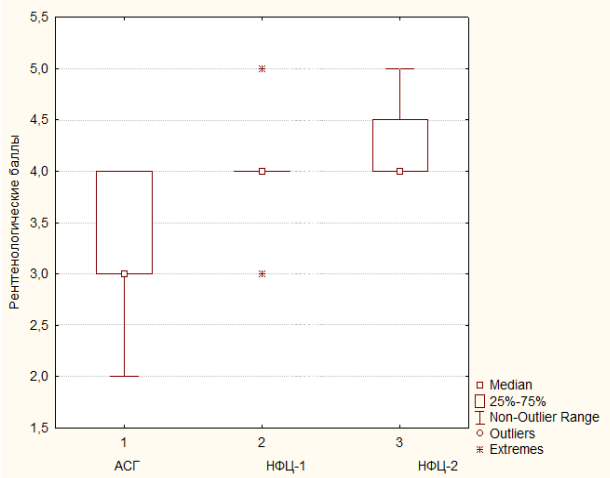


A - дефект, заполненный аутологичным сгустком крови: сохраняется участок просветления в проекции кортикальной пластинки, без признаков завершённой ремоделирования, B - НФЦ-1 (нанокомпозит с кортикальной локализацией): зона дефекта визуализируется как плотная, гомогенная структура, сопоставимая с прилегающей костной тканью, C - НФЦ-2 (интрамедуллярная локализация): структура регенерата гомогенна, визуально неотличима от неповреждённой кости, признаки завершённой консолидации.

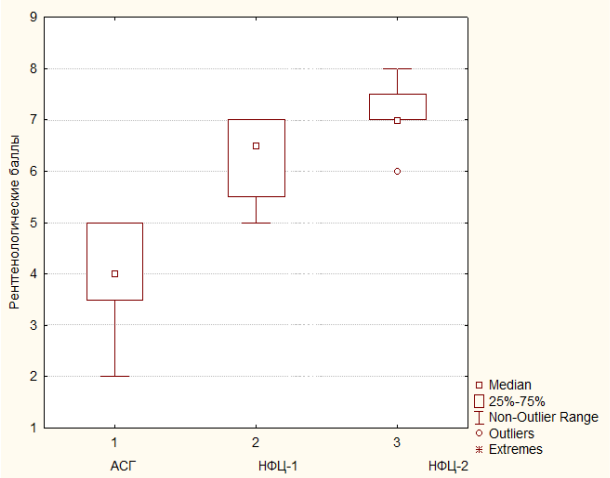
Рисунок 21 - Рентгенограммы костного дефекта на 60-е сутки

Таким образом, проведённая рентгенологическая оценка по шкале Lane-Sandhu продемонстрировала поэтапное усиление процессов репаративного остеогенеза во всех исследуемых группах с наиболее выраженной положительной динамикой при интрамедуллярном применении биокомпозита НФЦ-2 (рисунок 22).

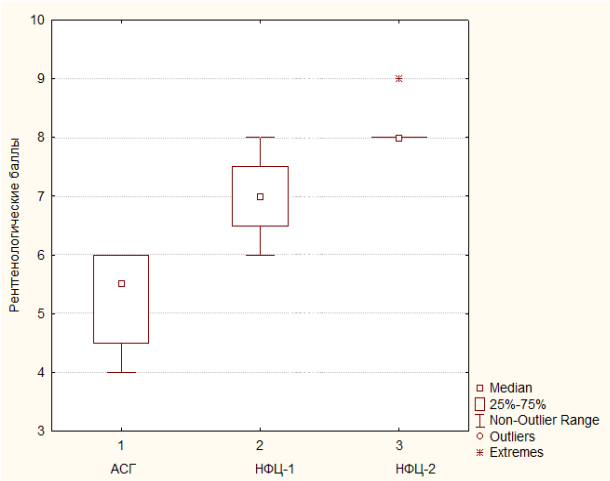
14 сутки



30 сутки



60 сутки



p_1 - статистическая значимость различий между группами АСГ и НФЦ-1; p_2 - статистическая значимость различий между группами АСГ и НФЦ-2; p_3 - статистическая значимость различий между группами НФЦ-1 и НФЦ-2

Рисунок 22 - Рентгенологическая оценка репаративного остеогенеза по шкале Lane-Sandhu на 14, 30 и 60-е сутки наблюдения»

Применение нанокомпозитного материала на основе наноцеллюлозы сопровождалось более высокими рентгенологическими показателями репаративной регенерации костной ткани по сравнению с аутологичным сгустком крови. Наиболее выраженные рентгенологические признаки консолидации костного дефекта и ремоделирования регенерата наблюдались при интрамедуллярной локализации биокомпозита (НФЦ-2).

4 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В этом исследовании на основе эксперимента на животных произведено изучение характера заживления костного дефекта бедренной кости при применении композитов на основе наноцеллюлозы в сравнении с аутологичным сгустком крови.

Результаты показывают, что использование биокомпозита на основе наноцеллюлозы трансплантированного в дефект костной ткани, методом заполнения на уровне кортикальной пластинки, группа НФЦ-1, сопровождается менее выраженным восстановлением кортикального слоя по сравнению с группами АСГ и НФЦ-2, что подтверждается результатами гистоморфометрического исследования. В частности, в группе НФЦ-1 закрытие костного дефекта кортикальной пластинки в основном представлено вертикальным ростом и созреванием костной ткани по краю дефекта кортикальной пластинки. Горизонтальный рост костной ткани характеризовался незначительным образованием новообразованной костной ткани с закрытием зон дефекта менее 30% на 30 сутки, что так же подтверждалось визуально при оценке рентгенологических снимков. На серии рентген снимков отмечается закрытие дефекта костной ткани экспериментальных животных на 30 сутки. В группе НФЦ-1 менее чем на 30%, в то время как в группе с АСГ, дефект характеризовался закрытием на 50%, что свидетельствует о недостаточности резервов организма к регенерации столь большого дефекта бедренной кости экспериментального животного. Напротив в группе НФЦ-2 костный дефект на 30 сутки был полностью закрыт, что свидетельствует об ускоренной регенерации костного дефекта. При этом наблюдался значительно больший объем новообразованной костной ткани в кортикальной пластинке на 14, 30 и 60 сутки в сравнении с группами АСГ и НФЦ-1 ($p < 0.01$). Кроме того, в зоне дефекта определялся неизмененный композит, окруженный фиброзной тканью со слабым клеточным инфильтратом, слабоинтегрирующийся с новообразованной костной тканью. Также в группе НФЦ-1 было замечено отсутствие костной и хрящевой ткани, а также кровеносных сосудов внутри композитов. Полученные нами результаты дополняют существующие данные, демонстрирующие слабые остеокондуктивные свойства наноцеллюлозы [111-113]. Ранее мы показали, что формирование благоприятного репаративного микроокружения с реактивной лимфогистиоцитарной инфильтраций и хорошо васкуляризированной созревающей грануляционной тканью является важным условием формирования лакунарно-канальцевой системы и активной интеграции новообразованной костной ткани с композитом [114-116]. Лакунарно-канальцевая система играет очень важную роль в восстановлении компактной костной ткани: связывая остеобласты, остеоциты и кровеносные сосуды, она обеспечивает питание костных клеток и минерализацию костной ткани. Мы полагаем, что низкий остеокондуктивный эффект композитов наноцеллюлозы может быть связан с ранней и более быстрой биодеградацией композита в виде миксоидной дегенерации с формированием аморфной стекловидной гелеподобной массы,

ограничивающей интеграцию композита с образующейся костной тканью и формирование лакунарно-канальцевой системы костной ткани.

Важным результатом исследования является обнаружение в группах НФЦ-1 и НФЦ-2 продолженного остеогенеза в интрамедуллярном пространстве на 30 и 60 сутки. В частности, в обеих группах наблюдался вертикальный рост костной ткани по периферии и по краю наноцеллюлозного композита в интрамедуллярном пространстве. При этом и в группе НФЦ-1 и в группе НФЦ-2 наблюдался значительно больший объем костной ткани в интрамедуллярном пространстве на 14, 30 и 60 сутки в сравнении с АСГ ($p < 0.0001$). Полученные нами результаты дополняют существующие данные, демонстрирующие, что наноцеллюлоза обладает остеоиндуктивным потенциалом [117-119]. Ранее было показано, что наноцеллюлоза поддерживает дифференцировку и рост стволовых клеток в остеогенные линии, а как немодифицированные, так и модифицированные каркасы наноцеллюлозы поддерживают адгезию и жизнеспособность мезенхимальных стволовых клеток [120]. A. Nishiguchi, T. Taguchi [121] оценили иммунный ответ, генерируемый каркасом вакцины на основе наноцеллюлозного гидрогеля, у мышей. Они имплантировали нагруженные антигеном гидрогели подкожно мышам и проанализировали местную реакцию тканей. Гистологические наблюдения показали, что нановолокнистый каркас рекрутирует и инфильтрирует макрофаги и дендритные клетки в место имплантации. Этот результат предполагает, что наноцеллюлозный иммунный каркас способен усиливать антигенспецифические клеточные иммунные реакции у мышей. Мы полагаем, что в нашем исследовании различный остеоиндуктивный потенциал композитов в группах НФЦ-1 и НФЦ-2 был обусловлен размером композитов, используемым интраоперационно. Одним из недостатков использования наноцеллюлозы у человека считается отсутствие деградации или очень медленная деградация из-за отсутствия фермента целлюлазы [122], а также механических свойств наноцеллюлозы. Деградация целлюлозы на крысах была изучена Martson et al. [123], где каркас на основе целлюлозы подвергся длительному исследованию деградации, которое привело к медленной деградации в подкожной клетчатке крыс через 60 дней. Мы полагаем, что в отдельных случаях медленная деградация наноцеллюлозы может быть выгодным преимуществом, поскольку может влиять на иммунный ответ в течение длительного времени, необходимого для регенерации больших костных дефектов. Можно предположить, что длительное сохранение наноцеллюлозы в динамичной среде организма обеспечивает пролонгированный остеоиндуктивный потенциал, способствуя продолженному остеогенезу. В будущей работе приоритетом является понимание скорости деградации этих каркасов in vivo и соответствующей клеточной активности, которая приводит к деградации и ремоделированию в пространстве имплантата. Подтверждая вышеизложенное, рентгенологический метод исследования, предоставил визуальную оценку закрытия дефекта костной ткани в группах, при этом на 60 сутки исследования в группах АСГ и НФЦ-2 закрытие дефектов не различалось и было на 100 % заполнено костной тканью,

признаков воспаления костной ткани, избыточности костной мозоли обнаружено не было. В группе НФЦ-1 закрытие дефекта приблизилось к 50%.

Восстановление костных дефектов в ряде случаев сопровождается зонами некроза костей [124]. Наши результаты показывают, что при применении методики заполнения как в группе НФЦ-2, вокруг имплантатов образовалась плотная коллагеновая капсула, что указывает на созревание тканевой реакции. Ни в какой момент времени не наблюдалось явного некроза или чрезмерного воспаления. На 30-й и 60-й день группа НФЦ-2 показала доминирующий паттерн полной репарации дефекта интрамедуллярной зоны и костной пластинки зрелой костной тканью в гистопатологическом анализе. В целом гистологическая оценка продемонстрировала нормальную реакцию на имплантаты целлюлозы крысы с увеличением фиброзной инкапсуляции с течением времени. Минимальное воспаление и интеграция тканей с васкуляризацией подтвердили биосовместимость композитов НФЦ-2 в качестве материала имплантата для регенерации кости. Это имеет многообещающие последствия не только для костной пластики, но и для других ортопедических сценариев, требующих ремоделирования кости с минимальным риском некроза.

Результаты нашего исследования показали, что в 3(38%) случаев группы НФЦ-1 в зоне дефекта кортикальной пластинке преобладали хрящевая и соединительная ткани, а костная ткань была представлена в минимальном количестве. Мы полагаем, что персистенция данного паттерна может быть связана с контактом мягких тканей надкостницы с материалом композита и интрамедуллярным пространством с образованием фиброзно-пластического барьера остеогенеза, снижающего репаративные способности кости.

Наше исследование показало, что, согласно гистологическим данным не было существенной разницы в заживлении кортикальной пластинки между группами АСГ и НФЦ-2 по истечении 60 дней. Мы предполагаем, что отсутствие различий может быть связано с завершением активной фазы остеогенеза, приводящей к полному закрытию кортикальной пластинки. Однако важно признать, что реконструкция и ремоделирование костной ткани - это сложные процессы, продолжающиеся за пределами активной фазы остеогенеза [125,126]. Эти процессы включают реорганизацию и изменение формы новообразованной костной ткани, обеспечивая ее прочность и функциональность. Хотя полное закрытие костного дефекта могло быть достигнуто, продолжающаяся реконструкция и ремоделирование все еще могут иметь место [127,128]. Этот продолжающийся процесс может способствовать отсутствию значительной разницы в новообразованной костной ткани в кортикальной пластинке между группами НФЦ-2 и НФЦ-1, наблюдаемой на 60-й день. Это предполагает необходимость дополнительных исследований для полного понимания этих процессов. Кроме того, мы показали, что в группе НФЦ-2 не было нарушений восстановления кости, связанных с недостаточным костеобразованием. Новообразованная костная ткань в обеих группах характеризовалась нормальной гистоархитектурой: костная пластинка имела ламинарно-слоистое строение с очаговый хаотичный рисунок в области

преимущественно гаверсовых каналов и относительное количество костной ткани и гаверсовых каналов не отличалось как между группами, так и от строения кости вне костного дефекта.

В ходе рентгенологического анализа на 14, 30 и 60-е сутки были выявлены отчётливые различия в динамике заживления костного дефекта в зависимости от использованного материала и способа его введения. Уже на 14-е сутки в группе АСГ наблюдались начальные признаки репарации: в области дефекта определялись зоны раннего остеогенеза, что свидетельствовало об активации регенеративного процесса. В группе НФЦ-1, где композит располагался преимущественно в области кортикальной пластинки, визуализировались слабовыраженные признаки репарации, контуры дефекта оставались относительно чёткими, а зона трансплантации сохраняла рентгенопрозрачность, что указывало на ограниченную остеокондуктивную активность материала. В группе НФЦ-2 уже на 14-е сутки в интрамедуллярном пространстве определялись участки минерализованной ткани, ориентированные вдоль оси бедренной кости, что свидетельствовало о более благоприятной реакции на биокомпозит при его внутрикостной локализации [129].

На 30-е сутки рентгенологическая картина в группе АСГ демонстрировала частичное закрытие дефекта с формированием трабекулярной структуры и постепенным уплотнением костных балок. В группе НФЦ-1 отмечалось более активное формирование костного регенерата, однако сохранялись отдельные участки прежней линии дефекта и неоднородность костной ткани. В то же время в группе НФЦ-2 дефект был практически полностью заполнен вновь сформированной костной тканью, прослеживался выраженный вертикальный остеогенез, исходящий из интрамедуллярного канала, с интеграцией в кортикальные отделы кости. Полученные данные свидетельствуют о том, что интрамедуллярное введение биокомпозита обеспечивает более благоприятные условия для костной регенерации [130-134].

К 60-м суткам рентгенологические различия между группами становились ещё более выраженными. В группе НФЦ-2 отмечалось практически полное восстановление структуры костной ткани с формированием костномозгового канала и выравниванием рентгеноплотности регенерата с интактной костью. В группе АСГ сохранялись остаточные признаки дефекта и умеренная периостальная реакция. В группе НФЦ-1, несмотря на выраженное увеличение рентгеноплотности и признаки ремоделировки, полное восстановление структуры кортикальной пластинки достигалось не во всех случаях, что указывает на меньшую эффективность поверхностного размещения биокомпозита. Таким образом, полученные данные демонстрируют, что максимальный остеорегенеративный эффект достигается при интрамедуллярной локализации НФЦ-композита, что подтверждается как рентгенологически, так и результатами морфометрического исследования.

Ключевое преимущество данного исследования заключается в сравнительной оценке различных вариантов применения биокомпозитов на основе наноцеллюлозы в сопоставлении с аутологичным сгустком крови как на

ранних, так и на поздних этапах заживления костного дефекта. Использование стандартизированной модели дефекта бедренной кости крысы в сочетании с рентгенологическим, гистологическим и морфометрическим анализом позволило объективно оценить динамику остеорепарации и достоверность полученных результатов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование было сосредоточено на изучении биосовместимости и регенерации костной ткани при применении биокомпозита на основе наноцеллюлозы в сравнении с АСГ.

В результате проведённого исследования установлено, что применение биокомпозита на основе наноцеллюлозы оказывает различное влияние на процессы регенерации костной ткани в зависимости от способа его введения. При этом гистологическое исследование продемонстрировало отсутствие выраженных воспалительных и некротических изменений в зоне имплантации, что свидетельствует об удовлетворительной местной биосовместимости исследуемого биокомпозита.

Рентгенологическая оценка продемонстрировала наиболее высокие показатели регенерации костной ткани в группе НФЦ-2. Полученные результаты в совокупности с данными гистоморфометрического исследования свидетельствуют о более благоприятном течении репаративного остеогенеза при интрамедуллярном размещении биокомпозита.

Для проведения операционного этапа эксперимeтального исследования была отработана методика формирования оптиманого дефекта костной ткани, для экспериментальныз животных крыс, которая позволила оптимизировать операционный этап исследования и способствовать получению данных о закрытие дефектов с высокой достоверностью.

Лечение крыс с дефектами костной ткани, с применением биокомпозита на основе наноцеллюлозы показало клиническую, рентгенологичнскую и патоморфологическую эффективность.

Как показало проведенное исследование биокомпозит на основе наноцеллюлозы обладает биосовместимостью и обладает высокой регенерационной способностью костной ткани.

ВЫВОДЫ

На основании результатов экспериментального исследования были сделаны следующие выводы:

1) Сравнительный гистоморфометрический анализ показал, что при введении наноцеллюлозы только в интрамедуллярное пространство НФЦ-2 отмечается увеличение площади костной ткани в области дефекта кортикальной пластинки в 1.4 раза на 14 сутки ($p = 0.007$) и в 1.5 раза на 30 сутки ($p< 0.001$) по сравнению с контрольной группой АСГ. На 60 сутки в группах НФЦ-2 и АСГ отмечается полное закрытие дефекта с формированием зрелой костной ткани. В группе с трансплантацией композита как в кортикальную пластинку, так и в интрамедуллярное пространство НФЦ-1 площадь костной ткани на 14 сутки была ниже в 3.1 раза по сравнению с НФЦ-2, а на 30-60 сутки ниже в 2 раза.

2) В интрамедуллярном пространстве площадь новообразованной костной ткани на 14-е сутки в группе НФЦ-2 превышала значения контрольной группы АСГ в 1.5 раза, в группе НФЦ-1 - в 1.3 раза.

3) Композит на основе наноцеллюлозы подвергался умеренной деградации и ремоделированию на всех сроках наблюдения, сопровождавшейся умеренной гигантоклеточной реакцией при отсутствии активного воспаления и некроза. На ранних сроках композит сохранялся в месте имплантации, частично ограничиваясь соединительной и новообразованной костной тканью. К 60 суткам отмечалось его начальное замещение новообразованной костной тканью которое было в 2.1 раза выше в группе НФЦ-2 в сравнении с НФЦ-1 ($p=0.015$).

4) Рентгенологическая оценка показала, что применение биокомпозита на основе наноцеллюлозы ускоряет процессы репаративного остеогенеза по сравнению с аутологичным сгустком крови. Наиболее выраженный эффект наблюдался при интрамедуллярном введении биокомпозита (НФЦ-2): уже на 14-е сутки рентгенологический балл был статистически значимо выше по сравнению с группой АСГ ($p=0,015$), к 30-м суткам обе группы с применением биокомпозита превосходили контрольную группу (НФЦ-1: $p=0,002$; НФЦ-2: $p=0,001$), а к 60-м суткам группа НФЦ-2 сохраняла статистически значимое преимущество как перед АСГ ($p=0,0002$), так и перед НФЦ-1 ($p=0,007$), что сопровождалось более ранним формированием зрелой костной ткани и ремоделированием регенерата.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Deng A.D., Innocenti M., Arora R., Gabl M., Tang J.B. Vascularized Small-Bone Transfers for Fracture Nonunion and Bony Defects // Clin. Plast. Surg. – 2020. – Vol. 47, № 4. – P. 501–520. doi:10.1016/j.cps.2020.06.005
2. Panero A.J., Everts P.A., Nakagawa H., Sussman W., Qin X. Basic Science of Allograft Orthobiologics// Phys. Med. Rehabil. Clin. N. Am. – 2023. – Vol. 34, № 1. – P. 49–61. doi:10.1016/j.pmr.2022.08.005
3. Cook H.R., Strand G., Messerly C., Nowak J. The Ankle Joint: Management of Significant Bone Loss with Arthrodesis // Clin. Podiatr. Med. Surg. – 2023. – Vol. 40, № 4. – P. 711–724. DOI: 10.1016/j.cpm.2023.05.012
4. Dawson D.R., El-Ghannam A., Van Sickels J.E., Naung N.Y. Tissue Engineering: What is New? // Dent. Clin. North Am. – 2019. – Vol. 63, № 3. – P. 433–445. doi:10.1016/j.cden.2019.02.009
5. Li J., Zhao J., Xu Y., Xu A., He F. Titanium Surface Interacting with Blood Clot Enhanced Migration and Osteogenic Differentiation of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells // Frontiers in Bioengineering and Biotechnology. – 2023. – Vol. 11. – Art. 1136406. doi:10.3389/fbioe.2023.1136406.
6. Wang C., Bai J., Tian P. et al. The Application Status of Nanoscale Cellulose-Based Hydrogels in Tissue Engineering and Regenerative Biomedicine // Front. Bioeng. Biotechnol. – 2021. – Vol. 9. – Art. 732513. doi:10.3389/fbioe.2021.732513.
7. Chavali M., Singh M., Srivastava A. et al. Unlocking the potential of nanocellulose in biomedical innovations: A sustainable marvel // Sci. Total Environ. – 2025. – Vol. 1004. – Art. 180778. doi:10.1016/j.scitotenv.2025.180778.
8. Curvello R., Raghuwanshi V.S. Engineering nanocellulose hydrogels for biomedical applications // Adv. Colloid Interface Sci. – 2019. – Vol. 267. – P. 47–61. doi:10.1016/j.cis.2019.03.002.
9. Black C., Gibbs D., McEwan J. et al. Comparison of bone formation mediated by bone morphogenetic protein delivered by nanoclay gels with clinical techniques (autograft and InductOs®) in an ovine bone model // J. Tissue Eng. – 2022. – Vol. 13. – Art. 20417314221113746. doi:10.1177/20417314221113746.
10. Kohli N., Sharma V., Orera A. et al. Pro-angiogenic and osteogenic composite scaffolds of fibrin, alginate and calcium phosphate for bone tissue engineering // J. Tissue Eng. – 2021. – Vol. 12. – Art. 20417314211005610. doi:10.1177/20417314211005610.
11. Deng Y., Liang Y., Liu X. Biomaterials for Periodontal Regeneration // Dent. Clin. North Am. – 2022. – Vol. 66, № 4. – P. 659–672. doi:10.1016/j.cden.2022.05.011.
12. Aubry S.T., Napolitano L.M. Management of Common Postoperative Infections in the Surgical Intensive Care Unit // Infect. Dis. Clin. North Am. – 2022. – Vol. 36, № 4. – P. 839–859. doi:10.1016/j.idc.2022.07.005.
13. Wukich D.K., Johnson M.J. Limb Salvage in Severe Diabetic Foot Infection // Foot Ankle Clin. – 2022. – Vol. 27, № 3. – P. 655–670. doi:10.1016/j.fcl.2022.02.004.

14. Espinosa N., Klammer G. Cavovarus Reconstruction: Reconstructive Possibilities. Proposed Treatment Algorithm // Foot Ankle Clin. – 2022. – Vol. 27, № 2. – P. 475–490. doi:10.1016/j.fcl.2021.11.028.
15. Aronson J.R., Justo J.A., Amanatullah D.F. Local Antibiotic Delivery in Orthopedics // Infect. Dis. Clin. North Am. – 2025. – Vol. 39, № 3. – P. 529–547. doi:10.1016/j.idc.2025.03.002.
16. Liu X., Hu H., Ma J., Wang B. Mineralized cellulose nanofibers reinforced bioactive hydrogel remodels the osteogenic and angiogenic microenvironment for enhancing bone regeneration // Carbohydrate Polymers. – 2025. – Vol. 357. – Art. 123480. doi:10.1016/j.carbpol.2025.123480.
17. Cui S., Zhang S., Coseri S. An injectable and self-healing cellulose nanofiber-reinforced alginate hydrogel for bone repair // Carbohydrate Polymers. – 2023. – Vol. 300. – Art. 120243. doi:10.1016/j.carbpol.2022.120243.
18. Grząbka-Zasadzińska A., Smułek W., Kuleta N., Gąsiorowski R., Borysiak S. Lysozyme-modified nanocellulose for enhanced nucleation and antibacterial properties in advanced polylactide composites // International Journal of Biological Macromolecules. – 2025. – Vol. 321, Pt. 1. – Art. 146299. doi:10.1016/j.ijbiomac.2025.146299.
19. Zhang Y. et al. Application of Nanocellulose-Based Aerogels in Bone Tissue Engineering: Current Trends and Outlooks // Polymers. – 2023. – Vol. 15, № 10. – Art. 2323. doi:10.3390/polym15102323.
20. Kupnik K., Primožič M., Kokol V., Leitgeb M. Nanocellulose in Drug Delivery and Antimicrobially Active Materials // Polymers. – 2020. – Vol. 12, № 12. – Art. 2825. doi:10.3390/polym12122825.
21. Kasbi K., Nazemi Z., Janmohammadi M., Bahraminasab M., Arabhalvaei M., Nourbakhsh M.S. Tuning antibiotic release from gelatin-cellulose nanocrystal hydrogel films // International Journal of Biological Macromolecules. – 2025. – Vol. 329, Pt. 1. – Art. 147743. doi:10.1016/j.ijbiomac.2025.147743.
22. Shi S., Zhang Y., Wang X. et al. Research and Application of Chitosan Nanoparticles in Orthopedic Infections // International Journal of Nanomedicine. – 2024. – Vol. 19. – P. 6839–6860. doi:10.2147/IJN.S460181.
23. Yadav M., Kaushik B., Rao G.K. et al. Advances and challenges in the use of chitosan and its derivatives in biomedical fields: A review // Carbohydrate Polymer Technologies and Applications. – 2023. – Vol. 5. – Art. 100323. doi:10.1016/j.carpta.2023.100323.
24. Yeoh M., Cunningham L.L. Concepts of Rigid Fixation in Facial Fractures // Atlas Oral Maxillofac. Surg. Clin. – 2019. – Vol. 27, № 2. – P. 107–112. doi:10.1016/j.cxom.2019.05.002.
25. Westrick E.R. et al. Orthopaedic Advances: Use of Three-Dimensional Metallic Implants for Reconstruction of Critical Bone Defects After Trauma // J. Am. Acad. Orthop. Surg. – 2023. – Vol. 31, № 18. – P. e685–e693. doi:10.5435/JAAOS-D-22-00676.
26. Sanhudo J.A.V., Pereira T.A.P. Current Trends in Fixation Techniques // Foot Ankle Clin. – 2020. – Vol. 25, № 1. – P. 97–108. doi:10.1016/j.fcl.2019.10.006.

27. Grewal I.S., Starr A.J. What's New in Percutaneous Pelvis Fracture Surgery? // Orthop. Clin. North Am. – 2020. – Vol. 51, № 3. – P. 317–324. doi:10.1016/j.ocl.2020.02.010.
28. Hou G., Liu B., Tian Y., Liu Z., Zhou F. Reconstruction of Ipsilateral Femoral and Tibial Bone Defect by 3D Printed Porous Scaffold Without Bone Graft: A Case Report // JBJS Case Connector. – 2022. – Vol. 12, № 1. – Art. e20.00592. doi:10.2106/JBJS.CC.20.00592.
29. Minehara H., Maruo A., Amadei R., Contini A., Braile A., Kelly M., Jenner L., Schemitsch G.W., Schemitsch E.H., Miclau T. III. Open fractures: Current treatment perspective // OTA International. – 2023. – Vol. 6, № 3, Suppl. – Art. e240. doi:10.1097/OI9.0000000000000240.
30. Turley L., Barry I., Sheehan E. Frequency of complications in intramedullary nailing of open tibial shaft fractures: A systematic review // EFORT Open Reviews. – 2023. – Vol. 8, № 2. – P. 90–99. doi:10.1530/EOR-22-0076.
31. Armbruster J., Thomas B., Stengel D., Spranger N., Gruetzner P.A., Hackl S. Managing Nonunions and Fracture-Related Infections—A Quarter Century of Knowledge, and Still Curious: A Narrative Review // Journal of Clinical Medicine. – 2025. – Vol. 14, № 21. – Art. 7767. doi:10.3390/jcm14217767.
32. Lu S., Wang Q., Shen H. et al. Analysis of the epidemiological status, microbiology, treatment and economic burden of osteomyelitis worldwide // Frontiers in Endocrinology. – 2023. – Vol. 13. – Art. 1097147. doi:10.3389/fendo.2022.1097147.
33. Mauffrey C., Barlow B.T., Smith W. Management of segmental bone defects // Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons. – 2015. – Vol. 23, № 3. – P. 143–153. doi:10.5435/JAAOS-D-14-00018.
34. Del Piñal F. Bone Grafts and Flaps in the Management of Complex Upper-Extremity Defects: Indications and Outcomes // Clinics in Plastic Surgery. – 2024. – Vol. 51, № 4. – P. 515–526. doi:10.1016/j.cps.2024.03.001.
35. Youssef Y., Hättich A., Klepka K.L. et al. Periprosthetic joint infections – a scoping review // Innovative Surgical Sciences. – 2024. – Vol. 9, № 4. – P. 191–197. doi:10.1515/iss-2024-0016.
36. Tripathi S., Tarabichi S., Parvizi J., Rajgopal A. Current relevance of biomarkers in diagnosis of periprosthetic joint infection: an update // Arthroplasty. – 2023. – Vol. 5, № 1. – Art. 41. doi:10.1186/s42836-023-00186-5.
37. Moore A.J., Wylde V., Whitehouse M.R., Beswick A.D., Walsh N.E., Jameson C., Blom A.W. Development of evidence-based guidelines for the treatment and management of periprosthetic hip infection: the INFORM guidelines // Bone & Joint Open. – 2023. – Vol. 4, № 4. – P. 226–233. doi:10.1302/2633-1462.44.BJO-2022-0155.R1.
38. Tarabichi M., Parvizi J. et al. Current concepts in the diagnosis of periprosthetic joint infection // Arthroplasty. – 2023.
39. Tabaja H., Abdelmalek J.A., Tande A.J. Periprosthetic Joint Infection: What's New? // Infectious Disease Clinics of North America. – 2024. – Vol. 38, № 4. – P. 789–808. doi:10.1016/j.idc.2024.08.005.

40. Ascione T., Pagliano P., Mariconda M. et al. Upcoming evidence in clinical practice of two-stage revision for periprosthetic joint infection // Journal of Orthopaedics and Traumatology. – 2024. – Vol. 25. – Art. 30. doi:10.1186/s10195-024-00767-0.
41.Delbrück H., Gehlen Y., Hildebrand F., Brunner R. Redisplacement rate after bony hip reconstructive surgery in nonambulatory patients with cerebral palsy: a systematic review and meta-analysis // EFORT Open Reviews. – 2024. – Vol. 9, № 8. – P. 773–784. doi:10.1530/EOR-23-0043.
42. Тулеубаев Б.Е., Винокуров В.А., Косилова Е.Ю., Қошанова А.А., Феоктистов В.А., Керімбеков Т.И. Травматологияда наноцеллюлоза негізіндегі биокомпозиттерді қолдану әлеуеті // Traumatology and Orthopaedics of Kazakhstan. – 2023. – Special issue, № 68. – Б. 23–28. doi:10.52889/1684-9280-2023-68-23-28.
43. Shanbhag S., Suliman S., Pandis N., Stavropoulos A., Sanz M., Mustafa K. Cell therapy for orofacial bone regeneration: a systematic review and meta-analysis // Journal of Clinical Periodontology. – 2019. – Vol. 46, Suppl. 21. – P. 162–182. doi:10.1111/jcpe.13049.
44. Brink O. The choice between allograft or demineralized bone matrix is not unambiguous in trauma surgery // Injury. – 2021. – Vol. 52, Suppl. 2. – P. S23–S28. doi:10.1016/j.injury.2020.11.013.
45. Patel R. Periprosthetic Joint Infection // New England Journal of Medicine. – 2023. – Vol. 388, № 3. – P. 251–262. doi:10.1056/NEJMra2203474.
46. Тулеубаев Б.Е., Косилова Е.Ю., Қошанова А.А., Авромиди И.К. Наноматериалдарды дамытудың заманауи тенденциялары мен оларды медицинада қолдану // Traumatology and Orthopaedics of Kazakhstan. – 2025. – Vol. 76, № 3. – Art. jto004. doi:10.52889/1684-9280-2025-76-3-jto004.
47. Avila-Ortiz G., Bartold P.M., Giannobile W., Katagiri W., Nares S., Rios H. et al. Biologics and cell therapy tissue engineering approaches for the management of the edentulous maxilla: A systematic review // International Journal of Oral & Maxillofacial Implants. – 2016. – Vol. 31, Suppl. – P. s121–s164. doi:10.11607/jomi.16suppl.g4.
48. Hickey R.J., Pelling A.E. Cellulose Biomaterials for Tissue Engineering // Frontiers in Bioengineering and Biotechnology. – 2019. – Vol. 7. – Art. 45. doi:10.3389/fbioe.2019.00045.
49. O'Brien F.J. Biomaterials & scaffolds for tissue engineering // Materials Today. – 2011. – Vol. 14, № 3. – P. 88–95. doi:10.1016/S1369-7021(11)70058-X.
50. Xiang X.N., Zhu S.Y., He H.C., Yu X., Xu Y., He C.Q. Mesenchymal stromal cells in osteonecrosis: a review article from basic to clinical applications // Stem Cell Research & Therapy. – 2025. – Vol. 16. – Art. 36. doi:10.1186/s13287-025-04173-8.
51. Mereness J.A., Basu S., Benoodt L., Benoit D.S.W. Temporal transcriptomic profiling of bone autograft healing reveals dynamic immune, vascular, and osteogenic programs // Bone. – 2026. – Vol. 205. – Art. 117771. doi:10.1016/j.bone.2025.117771.

52. Korban Z., Yammine Y. Grafts and Nonvascularized Repair Materials for Anterior Skull Base Defects // Otolaryngologic Clinics of North America. – 2026. – Vol. 59, № 3. – P. 547–563. doi:10.1016/j.otc.2026.01.004.
53. Swetha M., Sahithi K., Moorthi A., Srinivasan N., Ramasamy K., Selvamurugan N. Biocomposites containing natural polymers and hydroxyapatite for bone tissue engineering // International Journal of Biological Macromolecules. – 2010. – Vol. 47, № 1. – P. 1–4. doi:10.1016/j.ijbiomac.2010.03.015.
54. Bahraminasab M., Janmohammadi M., Arab S., Talebi A., Nooshabadi V.T., Amini A., Jang H.W. Bone Scaffolds: An Incorporation of Biomaterials, Cells, and Biofactors // ACS Biomaterials Science & Engineering. – 2021. – Vol. 7, № 12. – P. 5397–5431. doi:10.1021/acsbiomaterials.1c00920.
55. Аникушин Б.М. Синтетические и прикладные аспекты исследования наноматериалов на основе целлюлозы: дис. … канд. хим. наук. – Москва, 2022. – 141 с.
56. Vahidi G., Rux C., Sherk V.D., Heveran C.M. Lacunar-canalicular bone remodeling: Impacts on bone quality and tools for assessment // Bone. – 2021. – Vol. 143. – Art. 115663. doi:10.1016/j.bone.2020.115663.
57. Mashiba T., Saito M., Yamagami Y., Tanaka M., Iwata K., Yamamoto T. Effects of suppressed bone remodeling by minodronic acid and alendronate on bone mass, microdamage accumulation, collagen crosslinks and bone mechanical properties in the lumbar vertebra of ovariectomized cynomolgus monkeys // Bone. – 2017. – Vol. 97. – P. 184–191. doi:10.1016/j.bone.2017.01.003.
58. Tang J., Wang J., Wang S., Liu Z., Wang X., Zhao Z., Hu J. Analysis of Factors Influencing the Fusion Rate in Lumbar Interbody Fusion Surgery: A Systematic Review // World Neurosurgery. – 2025. – Vol. 202. – Art. 124418. doi:10.1016/j.wneu.2025.124418.
59. Yamada S., Shanbhag S., Mustafa K. Scaffolds in Periodontal Regenerative Treatment // Dental Clinics of North America. – 2022. – Vol. 66, № 1. – P. 111–130. doi:10.1016/j.cden.2021.06.004.
60. Hsieh T.Y., Peterson A. LeFort and Complex Midface Fractures // Facial Plastic Surgery Clinics of North America. – 2025. – Vol. 33, № 3. – P. 351–364. doi:10.1016/j.fsc.2025.03.007.
61. Тулеубаев Б.Е., Винокуров В.А., Косилова Е.Ю., Қошанова А.А., Феоктистов В.А., Керімбеков Т.И., Аврамиди И.К. Өсімдік наноцеллюлозасы мен кальций фосфатына негізделген жаңа материалдың сүйек тініне имплантацияланған аймағының тіндік құрамын морфометриялық in vivo бағалау // Traumatology and Orthopaedics of Kazakhstan. – 2023. – Vol. 4, № 70. – Б. 31–35. doi:10.52889/1684-9280-2023-4-70-31-35.
62. Ferracane J.L., Sidhu S.K., Melo M.A.S., Yeo I.-S.L., Diogenes A., Darvell B.W. Bioactive dental materials: Developing, promising, confusing // JADA Foundational Science. – 2023. – Vol. 2. – Art. 100022. doi:10.1016/j.jfscie.2023.100022.
63. Badhe R.V., Chatterjee A., Bijukumar D., Mathew M.T. Current Advancements in Bio-ink Technology for Cartilage and Bone Tissue Engineering // Bone. – 2023. – Vol. 171. – Art. 116746. doi:10.1016/j.bone.2023.116746.

64. Conway J.C., Oliver R.A., Wang T., Wills D.J., Herbert J., Buckland T. et al. The Efficacy of a Nanosynthetic Bone Graft Substitute as a Bone Graft Extender in Rabbit Posterolateral Fusion // The Spine Journal. – 2021. – Vol. 21, № 11. – P. 1925–1937. doi:10.1016/j.spinee.2021.05.017.
65. Shah K.N., Kamal R.N. Bone Graft Substitutes—What Are My Options? // Hand Clinics. – 2024. – Vol. 40, № 1. – P. 13–23. doi:10.1016/j.hcl.2023.09.001.
66. Maia F.R., Bastos A.R., Oliveira J.M., Correlo V.M., Reis R.L. Recent Approaches Towards Bone Tissue Engineering // Bone. – 2022. – Vol. 154. – Art. 116256. doi:10.1016/j.bone.2021.116256.
67. de Wildt B.W.M., Cramer E.E.A., de Silva L.S., Ito K., Gawlitta D., Hofmann S. Evaluating Material-driven Regeneration in a Tissue Engineered Human In Vitro Bone Defect Model // Bone. – 2023. – Vol. 166. – Art. 116597. doi:10.1016/j.bone.2022.116597.
68. Akhmetova S., Tuleubayev B., Kamyshanskiy Y., Saginova D., Koshanova A., Kossilova Y., Vinokurov V., Avromidi I., Amirkhanova Zh., Barbeck M., Belyaev I., Darybayev D., Rashova M. Comparative assessment of the microbiological and histopathological picture of the implantation zone of a nanocellulose-based biocomposite in vivo // In Vivo. – 2026. – Vol. 40, № 4. – P. 2003–2013. doi:10.21873/invivo.14353.
69. Reznikov N., Hoac B., Buss D.J., Addison W.N., Barros N.M.T., McKee M.D. Biological Stenciling of Mineralization in the Skeleton: Local Enzymatic Removal of Inhibitors in the Extracellular Matrix // Bone. – 2020. – Vol. 138. – Art. 115447. doi:10.1016/j.bone.2020.115447.
70. Hayann L., Cominal J.G., Lima I.S., Patrício M.R., Mello M.T., Andrilli L.H.S. et al. Inhibition of Sphingomyelinase Blocks the Recruitment of Alkaline Phosphatase to Mineralization-Competent Matrix Vesicles // Bone. – 2026. – Vol. 193. – Art. 117928. doi:10.1016/j.bone.2025.117928.
71. Luca-Pozner V., Nischwitz S.P., Conti E., Lipa G., Ghezal S., Luze H. et al. The Use of a Novel Burn Dressing out of Bacterial Nanocellulose Compared to the French Standard of Care in Paediatric 2nd Degree Burns: A Retrospective Analysis // Burns. – 2022. – Vol. 48, № 6. – P. 1472–1480. doi:10.1016/j.burns.2022.02.021.
72. Wakelin S.H., Cobourn K.D., Stirrat T., Sayah A., Sage K., Ryaby J. et al. Fusion Rate of Biphasic Calcium Phosphate Bone Graft with Needle-shaped Submicron Surface Topography in Interbody Lumbar Fusion for Degenerative Disc Disease: A Single-center Retrospective Review // World Neurosurgery. – 2025. – Art. 123759. doi:10.1016/j.wneu.2025.123759.
73. Nordberg R.C., Bielajew B.J., Takahashi T., Dai S., Hu J.C., Athanasiou K.A. Recent Advancements in Cartilage Tissue Engineering Innovation and Translation // Nature Reviews Rheumatology. – 2024. – Vol. 20, № 6. – P. 323–346. doi:10.1038/s41584-024-01118-4.
74. Bernardelli de Mattos I., Nischwitz S.P., Tuca A.-C., Groeber-Becker F., Funk M., Birngruber T. et al. Delivery of Antiseptic Solutions by a Bacterial Cellulose Wound Dressing: Uptake, Release and Antibacterial Efficacy of Octenidine and Povidone-

Iodine // Burns. – 2020. – Vol. 46, № 4. – P. 918–927. doi:10.1016/j.burns.2019.10.019.
75. Hoveidaei A.H., Sadat-Shojai M., Mosalamiaghili S., Salarikia S.R., Roghani-Shahraki H., Ghaderpanah R. et al. Nano-hydroxyapatite Structures for Bone Regenerative Medicine: Cell-Material Interaction // Bone. – 2024. – Vol. 178. – Art. 116956. doi:10.1016/j.bone.2023.116956.
76. Gepstein L., Skorecki K. Regenerative Medicine, Cell Therapy, and Gene Therapy // Goldman-Cecil Medicine. – Elsevier. – P. 1182.
77. Tsujii A., Ohori T., Hanai H., Nakamura N. Next Generation Approaches for Cartilage Repair and Joint Preservation // Journal of Cartilage & Joint Preservation. – 2024. – Vol. 4, № 2. – Art. 100177. doi:10.1016/j.jcjp.2024.100177.
78. De Bari C., Dell'Accio F. Regenerative Medicine and Tissue Engineering // Firestein & Kelley's Textbook of Rheumatology. – Elsevier. – 2024. – P. 730. doi:10.1016/B978-0-323-93540-1.00007-5.
79. Basavaraju S.V., Wendling N.M., Kuehnert M.J. Transfusion- and Transplant-Transmitted Infections // Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. – 10th ed. – Elsevier. – 2026. – P. 3625–3634.
80. Chen C.H., Hsu E.L., Stupp S.I. Supramolecular Self-Assembling Peptides to Deliver Bone Morphogenetic Proteins for Skeletal Regeneration // Bone. – 2020. – Vol. 141. – Art. 115565. doi:10.1016/j.bone.2020.115565.
81. Stokovic N., Ivanjko N., Erjavec I., Milosevic M., Oppermann H., Shimp L., Sampath K.T., Vukicevic S. Autologous Bone Graft Substitute Containing rhBMP6 Within Autologous Blood Coagulum and Synthetic Ceramics of Different Particle Size Determines the Quantity and Structural Pattern of Bone Formed in a Rat Subcutaneous Assay // Bone. – 2020. – Vol. 141. – Art. 115654. doi:10.1016/j.bone.2020.115654.
82. Xi L., Zhang Y., Gupta H., Terrill N., Wang P., Zhao T., Fang D. A Multiscale Study of Structural and Compositional Changes in a Natural Nanocomposite: Osteoporotic Bone with Chronic Endogenous Steroid Excess // Bone. – 2021. – Vol. 143. – Art. 115666. doi:10.1016/j.bone.2020.115666.
83. Fendi F., Abdullah B., Suryani S., Usman A.N., Tahir D. Development and Application of Hydroxyapatite-Based Scaffolds for Bone Tissue Regeneration: A Systematic Literature Review // Bone. – 2024. – Vol. 183. – Art. 117075. doi:10.1016/j.bone.2024.117075.
84. Kandhola G., Park S., Lim J.W., Chivers C., Song Y.H., Chung J.H., Kim J., Kim J.-W. Nanomaterial-Based Scaffolds for Tissue Engineering Applications: A Review on Graphene, Carbon Nanotubes and Nanocellulose // Tissue Engineering and Regenerative Medicine. – 2023. – Vol. 20, № 3. – P. 411–433. doi:10.1007/s13770-023-00530-3.
85. Shi Y., Jiao H., Sun J., Lu X., Yu S., Cheng L., Wang Q., Liu H., Biranje S., Wang J., Liu J. Functionalization of Nanocellulose Applied with Biological Molecules for Biomedical Application: A Review // Carbohydrate Polymers. – 2022. – Vol. 285. – Art. 119208. doi:10.1016/j.carbpol.2022.119208.
86. Hoveidaei A.H., Sadat-Shojai M., Nabavizadeh S.S., Niakan R., Shirinezhad A., MosalamiAghili S., Tabaie S. Clinical Challenges in Bone Tissue Engineering – A

Narrative Review // Bone. – 2025. – Vol. 192. – Art. 117363. doi:10.1016/j.bone.2024.117363.
87. Malekpour K., Hazrati A., Khosrojerdi A., Roshangar L., Ahmadi M. An Overview to Nanocellulose Clinical Application: Biocompatibility and Opportunities in Disease Treatment // Regenerative Therapy. – 2023. – Vol. 24. – P. 630–641. doi:10.1016/j.reth.2023.10.006.
88. Klemm D., Schumann D., Kramer F., Heßler N., Hornung M., Schmauder H.-P., Marsch S. Nanocelluloses as Innovative Polymers in Research and Application // Advances in Polymer Science: Polysaccharides II. – 2006. – Vol. 205. – P. 49–96. doi:10.1007/12_097.
89. Usov I., Nyström G., Adamcik J., Handschin S., Schütz C., Fall A., Bergström L., Mezzenga R. Understanding Nanocellulose Chirality and Structure–Properties Relationship at the Single Fibril Level // Nature Communications. – 2015. – Vol. 6. – Art. 7564. doi:10.1038/ncomms8564.
90. Iwamoto S., Nakagaito A.N., Yano H. Nano-Fibrillation of Pulp Fibers for the Processing of Transparent Nanocomposites // Applied Physics A: Materials Science & Processing. – 2007. – Vol. 89. – P. 461–466. doi:10.1007/s00339-007-4175-6.
91. Cañas-Gutiérrez A., Toro L., Fornaguera C., Borrós S., Osorio M., Castro-Herazo C., Arboleda-Toro D. Biomineralization in Three-Dimensional Scaffolds Based on Bacterial Nanocellulose for Bone Tissue Engineering: Feature Characterization and Stem Cell Differentiation // Polymers. – 2023. – Vol. 15, № 9. – Art. 2012. doi:10.3390/polym15092012.
92. Kumar M., Campbell L., Turner S. Secondary Cell Walls: Biosynthesis and Manipulation // Journal of Experimental Botany. – 2016. – Vol. 67, № 2. – P. 515–531. doi:10.1093/jxb/erv533.
93. Subhedar A., Bhadauria S., Ahankari S., Kargarzadeh H. Nanocellulose in Biomedical and Biosensing Applications: A Review // International Journal of Biological Macromolecules. – 2021. – Vol. 166. – P. 587–600. doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.10.217.
94. Li Y., Jiao H., Zhang H., Wang X., Fu Y., Wang Q., Liu H., Yong Y.-C., Guo J., Liu J. Biosafety Consideration of Nanocellulose in Biomedical Applications: A Review // International Journal of Biological Macromolecules. – 2024. – Vol. 265, Pt. 1. – Art. 130900. doi:10.1016/j.ijbiomac.2024.130900.
95. Gultepe E., Nagesha D., Sridhar S., Amiji M. Nanoporous Inorganic Membranes or Coatings for Sustained Drug Delivery in Implantable Devices // Advanced Drug Delivery Reviews. – 2010. – Vol. 62, № 3. – P. 305–315. doi:10.1016/j.addr.2009.11.003.
96. Guo X., Su F., Wang Y., Lai Y., Lu Y., Song J., Chen M., Ren X. Natural Deep Eutectic Solvent-Based Composites for Active Wound Dressings: A Review of Structure-Property-Function Relationships and Translational Challenges // Burns. – 2026. – Vol. 52, № 7. – Art. 108057. doi:10.1016/j.burns.2026.108057.
97. Abdul Khalil H.P.S., Davoudpour Y., Islam M.N., Mustapha A., Sudesh K., Dungani R., Jawaid M. Production and Modification of Nanofibrillated Cellulose

Using Various Mechanical Processes: A Review // Carbohydrate Polymers. – 2014. – Vol. 99. – P. 649–665. doi:10.1016/j.carbpol.2013.08.069.
98. Emami A., Izadi E., Menbari Oskouie I. Preservation of Extracellular Matrix in Decellularized Bone Scaffolds: Strategies, Challenges, and Future Directions // Tissue and Cell. – 2025. – Vol. 97. – Art. 103047. doi:10.1016/j.tice.2025.103047.
99. Ao C., Niu Y., Zhang X., He X., Zhang W., Lu C. Fabrication and Characterization of Electrospun Cellulose/Nano-Hydroxyapatite Nanofibers for Bone Tissue Engineering // International Journal of Biological Macromolecules. – 2017. – Vol. 97. – P. 568–573. doi:10.1016/j.ijbiomac.2016.12.091.
100. Saugspier M., Felthaus O., Viale-Bouroncle S., Driemel O., Reichert T.E., Schmalz G., Morsczeck C. The Differentiation and Gene Expression Profile of Human Dental Follicle Cells // Stem Cells and Development. – 2010. – Vol. 19, № 5. – P. 707–717. doi:10.1089/scd.2009.0027.
101. Tuleubayev B., Kamyshanskiy Y., Saginova D., Akhmetova S., Vinokurov V., Koshanova A., Kossilova Y. Comparative histomorphological assessment of the osteoinductive capacity of a nanofibrillated cellulose-based composite and autologous blood clot // Journal of Experimental Orthopaedics. – 2024. – Vol. 11, № 4. – Art. e70067. doi:10.1002/jeo2.70067.
102. Wang Q., Sun X., Basem A., Hussam A., Baghaei S., Rezaei R. Evaluating Mechanical and Biological Responses of Bipolymeric Drug-Chitosan-Hydroxyapatite Scaffold for Wounds: Fabrication, Characterization, and Finite Element Analysis // Burns. – 2024. – Vol. 50, № 9. – Art. 107207. doi:10.1016/j.burns.2024.07.011.
103. Ladd M.R., Atala A. Regenerative Medicine and Its Applications to Surgery // Sabiston Textbook of Surgery: The Biological Basis of Modern Surgical Practice. – 22nd ed. – Elsevier, 2026. – Ch. 50.
104. Jiang P., Ran J., Yan P., Zheng L., Shen X., Tong H. Rational Design of a High-Strength Bone Scaffold Platform Based on In Situ Hybridization of Bacterial Cellulose/Nano-Hydroxyapatite Framework and Silk Fibroin Reinforcing Phase // Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition. – 2018. – Vol. 29, № 2. – P. 107–124. doi:10.1080/09205063.2017.1403149.
105. Nangaku M., Kitching A.R., Boor P., Fornoni A., Floege J., Coates P.T. et al. International Society of Nephrology First Consensus Guidance for Preclinical Animal Studies in Translational Nephrology // Kidney International. – 2023. – Vol. 103, № 6. – P. 1064–1077. doi:10.1016/j.kint.2023.03.007.
106. European Parliament, Council of the European Union. Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes // Official Journal of the European Union. – 2010. – L 276.
107. Dempster D.W., Compston J.E., Drezner M.K., Glorieux F.H., Kanis J.A., Malluche H. et al. Standardized Nomenclature, Symbols, and Units for Bone Histomorphometry: A 2012 Update of the Report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee // Journal of Bone and Mineral Research. – 2013. – Vol. 28, № 1. – P. 2–17.

108. Parfitt A.M. Bone Histomorphometry: Proposed System for Standardization of Nomenclature, Symbols, and Units // Calcified Tissue International. – 1988. – Vol. 42, № 5. – P. 284–286. doi:10.1007/BF02556360.
109. Compston J. Bone Histomorphometry // Methods in Bone Biology / eds. T.R. Arnett, B. Henderson. – London: Chapman & Hall, 1998. – P. 177–199. doi:10.1007/978-0-585-38227-2_7.
110. Yotsova R., Gerova-Vatsova T., Parushev I. et al. Histomorphometric Assessment of Non-Decalcified Plastic-Embedded Specimens for Evaluation of Bone Regeneration Using Bone Substitute Materials—A Systematic Review // Materials. – 2025. – Vol. 18, № 1. – Art. 119. doi:10.3390/ma18010119.
111. Tawonsawatruk T., Hamilton D.F., Simpson A.H.R.W. Validation of the Use of Radiographic Fracture-Healing Scores in a Small Animal Model // Journal of Orthopaedic Research. – 2014. – Vol. 32, № 9. – P. 1117–1119. doi:10.1002/jor.22665.
112. Zhang C., Salick M.R., Cordie T.M., Ellingham T., Dan Y., Turng L.-S. Incorporation of poly(ethylene glycol) grafted cellulose nanocrystals in poly(lactic acid) electrospun nanocomposite fibers as potential scaffolds for bone tissue engineering // Materials Science and Engineering: C. – 2015. – Vol. 49. – P. 463–471.
113. Miyamoto T., Takahashi S., Ito H., Inagaki H., Noishiki Y. Tissue Biocompatibility of Cellulose and Its Derivatives // Journal of Biomedical Materials Research. – 1989. – Vol. 23. – P. 125–133.
114. Saginova D., Tashmetov E., Tuleubaev B., Kamyshanskiy Y. Effect of autologous platelet-rich plasma on new bone formation and viability of a Marburg bone graft // Open Life Sciences. – 2023. – Vol. 18, № 1. – Art. 20220761. doi:10.1515/biol-2022-0761.
115. Saginova D., Tashmetov E., Kamyshanskiy Y., Tuleubayev B., Rimashevskiy D. Evaluation of Bone Regenerative Capacity in Rabbit Femoral Defect Using Thermally Disinfected Bone Human Femoral Head Combined with Platelet-Rich Plasma, Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein 2, and Zoledronic Acid // Biomedicines. – 2023. – Vol. 11, № 6. – Art. 1729. doi:10.3390/biomedicines11061729.
116. Saginova D., Tashmetov E., Kamyshanskiy Y., Koshanova A., Arutyunyan M., Rustambek I. The histological assessment of new bone formation with zolendronic acid loaded bone allograft in rabbit femoral bone defect // Journal of Medicine and Life. – 2023. – Vol. 16, № 4. – P. 616–622. doi:10.25122/jml-2022-0314.
117. Rashad A., Grøndahl M., Heggset E.B., Mustafa K., Syverud K. Responses of rat mesenchymal stromal cells to nanocellulose with different functional groups // ACS Applied Bio Materials. – 2023. – Vol. 6. – P. 987–998. doi:10.1021/acsabm.2c00794.
118. Martínez Ávila H., Schwarz S., Feldmann E.-M., Mantas A., von Bomhard A., Gatenholm P., Rotter N. Biocompatibility Evaluation of Densified Bacterial Nanocellulose Hydrogel as an Implant Material for Auricular Cartilage Regeneration // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2014. – Vol. 98. – P. 7423–7435. doi:10.1007/s00253-014-5819-z.
119. Horbert V., Boettcher J., Foehr P., Kramer F., Udhardt U., Bungartz M., Brinkmann O., Burgkart R.H., Klemm D.O., Kinne R.W. Laser Perforation and Cell

Seeding Improve Bacterial Nanocellulose as a Potential Cartilage Implant in the In Vitro Cartilage Punch Model // Cellulose. – 2019. – Vol. 26. – P. 647–664. doi:10.1007/s10570-019-02286-3.
120. Tang A., Ji J., Li J. et al. Nanocellulose/PEGDA Aerogels with Tunable Poisson's Ratio Fabricated by Stereolithography for Mouse Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell Culture // Nanomaterials. – 2021. – Vol. 11, № 3. – Art. 603. doi:10.3390/nano11030603.
121. Nishiguchi A., Taguchi T. Sustained-immunostimulatory nanocellulose scaffold to enhance vaccine efficacy // Journal of Biomedical Materials Research Part A. – 2020. – Vol. 108. – P. 1159–1170. doi:10.1002/jbm.a.36890.
122. Lin N., Dufresne A. Nanocellulose in biomedicine: Current status and future prospect // European Polymer Journal. – 2014. – Vol. 59. – P. 302–325. doi:10.1016/j.eurpolymj.2014.07.025.
123. Märtson M., Viljanto J., Hurme T., Laippala P., Saukko P. Is cellulose sponge degradable or stable as implantation material? An in vivo subcutaneous study in the rat // Biomaterials. – 1999. – Vol. 20. – P. 1989–1995.
124. Enneking W.F., Burchardt H., Puhl J.J., Piotrowski G. Physical and Biological Aspects of Repair in Dog Cortical-Bone Transplants // Journal of Bone and Joint Surgery. American Volume. – 1975. – Vol. 57, № 2. – P. 237–252. doi:10.2106/00004623-197557020-00018.
125. Winkler T., Sass F.A., Duda G.N., Schmidt-Bleek K. A Review of Biomaterials in Bone Defect Healing, Remaining Shortcomings and Future Opportunities for Bone Tissue Engineering: The Unsolved Challenge // Bone & Joint Research. – 2018. – Vol. 7, № 3. – P. 232–243.
126. Ninarello D., Ballardini A., Morozzi G., La Barbera L. A Comprehensive Systematic Review of Marketed Bone Grafts for Load-Bearing Critical-Sized Bone Defects // Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials. – 2024. – Vol. 160. – Art. 106782. doi:10.1016/j.jmbbm.2024.106782.
127. Dimitriou R., Tsiridis E., Giannoudis P.V. Current Concepts of Molecular Aspects of Bone Healing // Injury. – 2005. – Vol. 36, № 12. – P. 1392–1404.
128. Kaps C., Loch A., Haisch A., Smolian H., Burmester G.R., Häupl T. et al. Human Platelet Supernatant Promotes Proliferation but Not Differentiation of Articular Chondrocytes // Medical & Biological Engineering & Computing. – 2002. – Vol. 40, № 4. – P. 485–490.
129. Cao S., Li Q., Zhang S., Liu K., Yang Y., Chen J. Oxidized Bacterial Cellulose Reinforced Nanocomposite Scaffolds for Bone Repair // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. – 2022. – Vol. 211. – Art. 112316. doi:10.1016/j.colsurfb.2021.112316.
130. Saska S., Barud H.S., Gaspar A.M.M., Marchetto R., Ribeiro S.J.L., Messaddeq Y. Bacterial Cellulose-Hydroxyapatite Nanocomposites for Bone Regeneration // International Journal of Biomaterials. – 2011. – Vol. 2011. – Art. 175362. doi:10.1155/2011/175362.
131. Wong S.K., Yee M.M.F., Chin K.-Y., Ima-Nirwana S. A Review of the Application of Natural and Synthetic Scaffolds in Bone Regeneration // Journal of Functional Biomaterials. – 2023. – Vol. 14, № 5. – Art. 286. doi:10.3390/jfb14050286.

132. Wang J., Liu M., Yang C., Pan Y., Ji S., Han N., Sun G. Biomaterials for Bone Defect Repair: Types, Mechanisms and Effects // The International Journal of Artificial Organs. – 2024. – Vol. 47, № 2. – P. 75–84. doi:10.1177/03913988231218884.
133. Sagar N., Chakravarti B., Maurya S.S., Nigam A., Malakar P., Kashyap R. Unleashing Innovation: 3D-Printed Biomaterials in Bone Tissue Engineering for Repairing Femur and Tibial Defects in Animal Models – A Systematic Review and Meta-Analysis // Frontiers in Bioengineering and Biotechnology. – 2024. – Vol. 12. – Art. 1385365. doi:10.3389/fbioe.2024.1385365.
134. Dong C., Tan G., Zhang G., Lin W., Wang G. The Function of Immunomodulation and Biomaterials for Scaffold in the Process of Bone Defect Repair: A Review // Frontiers in Bioengineering and Biotechnology. – 2023. – Vol. 11. – Art. 1133995. doi:10.3389/fbioe.2023.1133995.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Сертификат за лучший постерный доклад на 25-м юбилейном конгрессе EFORT (25th EFORT Annual Congress

Certificate

Certificate of Special Mention

The European Federation of National Associations of Orthopaedics and Traumatology certifies that

Yekaterina Kossilova

Kazakhstan

contributed with the oral presentation of the poster entitled

Histological Assessment Of Biocomposite In Bone Tissue Based On Nanocellulose In Vivo

Yekaterina Kossilova, Berik Tuleubaev, Amina Koshanova, Saule Ahmetova, Dina Saginova, Evgeny Kamyshansky

which was selected out of its scientific topic group as the best poster presentation onsite during our 25th EFORT Annual Congress held in Hamburg, Germany from 22 to 24 May 2024.

Prof. Dr. Luigi Zagra
Chairman of the Science Committee

Mr. David Limb
EFORT President 2023-2024

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Свидетельство о внесении сведений в государственный реестр прав на объекты, охраняемые авторским правом № 54701 от «17» февраля 2025 года



ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ

РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

АВТОРЛЫҚ ҚҰҚЫҚПЕН ҚОРҒАЛАТЫН ОБЪЕКТІЛЕРГЕ ҚҰҚЫҚТАРДЫҢ МЕМЛЕКЕТТІК ТІЗІЛІМГЕ МӘЛІМЕТТЕРДІ ЕНГІЗУ ТУРАЛЫ

КУӘЛІК

2025 жылғы «17» ақпан № 54701

Автордың (лардың) жөні, аты, әкесінің аты (егер ол жеке басын куәландыратын құжатта көрсетілсе): **КОСИЛОВА ЕКАТЕРИНА ЮРЬЕВНА, Тулеубаев Берик Еркебуланович, Кошанова Амина Амантайкызы, Сатинова Дина Азимовна, Камышанский Евгений Константинович, Дарыбаев Дарын Маратұлы, Авромиди Иван Константинович**

Авторлық құқық объектісі: **ғылыми туынды**

Объектінің атауы: **Методика создания оптимальной модели дефекта трубчатой кости и заполнения ее биокомпозитом in vivo.**

Объектіні жасаған күні: **12.02.2025**

ҚР ҰЛТТЫҚ ЗИЯТКЕРЛІК МЕНШІК ИНСТИТУТЫ РГП «НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИНСТИТУТ ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ» МЮ РК

Құжат түпнұсқалығын http://www.kazpatent.kz/ru сайтының "Авторлық құқық" бөлімінде тексеруге болады https://copyright.kazpatent.kz

Подлинность документа возможно проверить на сайте kazpatent.kz в разделе «Авторское право» https://copyright.kazpatent.kz

ЭЦҚ қол қойылды

С. Ахметов

ПРИЛОЖЕНИЕ В

Свидетельство о внесении сведений в государственный реестр прав на объекты, охраняемые авторским правом № 40436 от «14» ноября 2023 года



ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ

РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

АВТОРЛЫҚ ҚҰҚЫҚПЕН ҚОРҒАЛАТЫН ОБЪЕКТІЛЕРГЕ ҚҰҚЫҚТАРДЫҢ МЕМЛЕКЕТТІК ТІЗІЛІМГЕ МӘЛІМЕТТЕРДІ ЕНГІЗУ ТУРАЛЫ

КУӘЛІК

2023 жылғы «14» қараша № 40436

Автордың (лардың) жөні, аты, әкесінің аты (егер ол жеке басын куәландыратын құжатта көрсетілсе): **ТУЛЕУБАЕВ БЕРИК ЕРКЕБУЛАНОВИЧ, Сагинова Дина Азимовна, Камышанский Евгений Константинович, Кошанова Амина Амантайкызы, Косилова Екатерина Юрьевна, Ташметов Эльярбек Розматжанович, Дарыбаев Дарын Маратұлы**

Авторлық құқық объектісі: **ғылыми туынды**

Объектінің атауы: **Морфологический метод оценки выживаемости графта как морфологический коррелят остеоиндуктивного и остеокондуктивного потенциалов имплантатов, применяемых для закрытия дефектов костной ткани**

Объектіні жасаған күні: **10.10.2023**

Құжат түпнұсқалығын http://www.kazpatent.kz/ru сайтының "Авторлық құқық" бөлімінде тексеруге болады https://copyright.kazpatent.kz

Подлинность документа возможно проверить на сайте kazpatent.kz в разделе «Авторское право» https://copyright.kazpatent.kz

ЭЦҚ қол қойылды

Е. Оспанов

ПРИЛОЖЕНИЕ Г
Акт внедрения

Ф КМУ 6-03/01

УТВЕРЖДАЮ
Проректор по академической и социальной работе
НАО «Карагандинский медицинский университет»
Даулеткалиева Ж.А.

подпись руководителя организации
«_17_» сентября 2026 г.

Акт внедрения
результатов научно-исследовательских, научно-технических работ (или) результатов научной и (или) научно-технической деятельности

1. Наименование научно-исследовательских, научно-технических работ и (или) результатов научной и (или) научно-технической деятельности:
«Методика создания оптимизированной модели дефекта трубчатой кости и заполнения ее биокомпозитом in vivo. Морфологический метод оценки выживаемости графта как морфологический коррелят остеоиндуктивного и остеокондуктивного потенциалов имплантатов, применяемых для закрытия дефектов костной ткани».

2. Краткая аннотация:
Применение разработанной экспериментальной модели дефекта трубчатой кости с имплантацией биокомпозита на основе наноцеллюлозы на различных уровнях костного дефекта и морфологической оценкой его остеоиндуктивного и остеокондуктивного потенциала.
3. Эффект от внедрения (экономический, социальный, экологический), подчеркнуть область эффекта: *Научно-исследовательский, академический*
4. Место и дата внедрения:
Кафедра травматологии и нейрохирургии январь-декабрь 2026 года.

5. Форма внедрения: Практические занятия для резидентов специальности «Травматология и ортопедия взрослая, детская»

Представители заявителя,
внедрившие результаты научно-
исследовательских, научно-технических работ
Должность _____ Косилова Е.Ю.
(подпись)
Должность _____ Давлетбаев М.Ж.
(подпись)

Представитель/представители организации, в
которую внедряются результаты научно-
исследовательских, научно-технических работ
Должность _____ Тулеубаев Б.Е.
(подпись)
Должность _____ Кошанова А.А.
(подпись)

Акт внедрения

Ф КМУ 6-03/01

УТВЕРЖДАЮ
Проректор по академической и социальной работе
НАО «Карагандинский медицинский университет»
Даулеткалиева Ж.А.

подпись руководителя организации
«_17_» сентября 2026 г.

Акт внедрения
результатов научно-исследовательских, научно-технических работ (или) результатов научной и (или) научно-технической деятельности

1. Наименование научно-исследовательских, научно-технических работ и (или) результатов научной и (или) научно-технической деятельности:
«Морфологический метод оценки выживаемости графта как морфологический коррелят остеоиндуктивного и остеокондуктивного потенциалов имплантатов, применяемых для закрытия дефектов костной ткани».
2. Краткая аннотация:
Применение морфологического метода оценки выживаемости графта для определения остеоиндуктивного и остеокондуктивного потенциала имплантатов, используемых для замещения дефектов костной ткани.
3. Эффект от внедрения (экономический, социальный, экологический), подчеркнуть область эффекта: *Научно-исследовательский, академический*
4. Место и дата внедрения:
Кафедра травматологии и нейрохирургии январь-декабрь 2026 года.

5. Форма внедрения: Практические занятия, семинары для резидентов специальности «Травматология и ортопедия взрослая, детская»

Представители заявителя,
внедрившие результаты научно-
исследовательских, научно-технических работ
Должность _____ Косилова Е.Ю.
(подпись)
Должность _____ Давлетбаев М.Ж.
(подпись)

Представитель/представители организации, в
которую внедряются результаты научно-
исследовательских, научно-технических работ
Должность _____ Тулеубаев Б.Е.
(подпись)
Должность _____ Кошанова А.А.
(подпись)