

УДК 599.323.45: 591.472: 575

РЕЗУЛЬТАТЫ ЗАМЕЩЕНИЯ ПОВЕРХНОСТНОГО ДЕФЕКТА ГИАЛИНОВОГО ХРЯЩА КРЫСЫ КЛЕТОЧНО- ИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИЕЙ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

М. С. Божокин¹, С. А. Божкова¹, Г. И. Нетылько¹,
Д. Г. Наконечный¹, М. И. Блинова², Ю. А. Нащекина²

¹ Российский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии
имени Р. Р. Вредена, Санкт-Петербург, Россия

² Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

Лечение и восстановление поврежденного слоя гиалинового хряща на сегодняшний день является важной и актуальной задачей, которая, несмотря на большое количество применяемых в клинической практике методик, до сих пор не решена в полном объеме. Перспективным направлением в решении данной проблемы может быть трансплантация клеточно-инженерной конструкции (КИК), состоящей из культуры клеток и биodeградируемого каркаса (мембраны). В экспериментальной работе на крысах была использована мембрана на основе полилактида и культуры мезенхимальных мультипотентных стволовых клеток (ММСК), а модель повреждения гиалинового слоя коленного сустава создавалась с помощью стоматологического бора. Клеточную культуру предварительно модифицировали с помощью белкового фактора роста TGF- β -3 для увеличения синтеза белков внеклеточного матрикса (ВКМ), в результате чего экспрессия генов *Acan* и *col2a1*, ответственных за синтез ВКМ, увеличилась в 4 раза по сравнению с контрольным образцом. При анализе области повреждения на длительных сроках наблюдения (до 90 суток) с помощью методики сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) удалось выявить уменьшение диаметра повреждения при трансплантации КИК, в то время как в контрольной группе, без применения КИК, диаметр повреждения увеличивался более чем в 2,5 раза. Таким образом, использование клеточно-инженерных конструкций является перспективным методом для восстановления поврежденного слоя гиалинового хряща, однако требуется проведение дополнительных исследований, направленных на увеличение эффективности модификации клеточной культуры, разработку методов совмещения ее с биodeградируемым каркасом, а также выбор способа фиксации КИК в области повреждения.

Ключевые слова: гиалиновый хрящ; дефект; клеточно-инженерная конструкция; восстановление; ММСК.

**M. S. Bozhokin, S. A. Bozhkova, G. I. Netyl'ko, D. G. Nakonechnyj,
M. I. Blinova, Yu. A. Nashchekina. EXPERIMENTAL RESULTS OF RAT
HYALINE CARTILAGE SURFACE DEFECT REPLACEMENT WITH A CELL
ENGINEERING STRUCTURE**

Nowadays, hyaline cartilage damage therapy and repair is one of the most topical research fields in regenerative medicine. However, in spite of a large number of methods

used in clinical practice, this problem has not been fully solved yet. A promising approach in dealing with this problem may be a transplantation of a cell engineering structure (CES), made up of cell culture and biodegradable scaffold (membrane). In our experiments with animal models we used a membrane made of polylactide and multipotent mesenchymal stem cells (MSC) culture, and the damage of the knee joint hyaline layer was simulated by dental boron. The cell culture was pre-modified by TGF- β -3 growth factor to promote the synthesis of extracellular matrix proteins (ECM). As a result, we observed a four-fold increase in *Acan* and *col2a1* expression compared to the control. Damaged areas were analyzed by scanning electron microscopy (SEM) over long observation periods (up to 90 days), and the diameter of the damaged area was found to decrease after CES transplantation, while the damage area in the control group, without CES, increased more than 2.5-fold in diameter. Thus, application of cell engineering structures is a promising method of repairing the damaged layer of hyaline cartilage. However, further studies are needed to enhance the effectiveness of the cell culture modification, develop methods for combining it with biodegradable scaffold, and select the method of fixing the CES in the damaged area.

Key words: hyaline cartilage; defect; cell engineering structure; recovery; MSC.

Введение

Лечение повреждений гиалинового хряща на сегодняшний день является актуальной задачей [Божокин и др., 2016]. Несмотря на относительную простоту биохимической и клеточной организации гиалинового хряща, его регенерационные способности крайне ограничены [Божокин и др., 2017]. В настоящее время в клинической практике хирурги применяют широкий набор методов по восстановлению поврежденной поверхности гиалинового хряща (артроскопическая туннелизация, микрофрактурирование, мозаичная аутохондропластика, пересадка собственной культуры хондроцитов) [Григорян и др., 2010; Волова и др., 2012; Новочадов, 2013; Bekkers et al., 2013], разрабатывают гидрогелевые имплантаты для замещения дефектов хряща [Божкова и др., 2016], однако эффективного метода лечения данной патологии в настоящее время не существует. Перспективным направлением является использование клеточно-инженерных конструкций (КИК) на основе биodeградируемого матрикса и культуры клеток, предварительно обработанной белковым фактором роста TGF- β -3 [Dahlin et al., 2014; Gonzalez-Fernandez et al., 2016]. Анализ процессов, происходящих на поверхности гиалинового хряща при его повреждении и последующей трансплантации КИК, может помочь исследователям в дальнейшей разработке перспективных клеточных конструкций для его восстановления.

Цель данной работы заключалась в оценке перифокальных реакций при замещении поверхностного дефекта гиалинового хряща крысы клеточно-инженерной конструкцией.

Материалы и методы

Экспериментальная работа прошла этическую экспертизу и соответствовала международным рекомендациям по проведению медико-биологических исследований с использованием животных. Клетки костного мозга выделяли из бедренных костей половозрелых крыс и культивировали в среде DMEM (БиолоТ, Россия) с добавлением 15% эмбриональной телячьей сыворотки (БиолоТ, Россия) и смеси антибиотиков пенициллина и стрептомицина в концентрации 50 мкг/мл (Gibco, Великобритания) до третьего пассажа (37 °C, 5 % CO₂). Подтверждение фенотипа ММСК в полученной культуре проводили на проточном цитофлуориметре BD FACS Aria III (BD Biosciences, США) с использованием моноклональных антител CD45 и CD90. Флуоресцентную окраску для подтверждения заселения КИК проводили красителями родамин-фаллоидином (Invitrogen, США) и DAPI (Sigma-Aldrich, США) согласно протоколу производителя. Для направленной дифференцировки клеток применяли белковый фактор роста TGF- β -3 (Sigma-Aldrich, США) в концентрации 0,01 нг/мл, который добавлялся при каждой замене среды. Уровень экспрессии генов коллагена II типа и агрекана определяли методом полимеразной цепной реакции в реальном времени на амплификаторе CFX96 (Biorad, США) с праймерами: Col2a1F-ATCACCTACCACTGTAAGAA; Col2a1R-CCCTCATCTCCACATCAT; AcanF-GAGAACCGT-CTACCTCTACC; AcanR-TACCTCGGAAGCAGAAGG. Биodeградируемые матрицы для культивирования готовили методом выщелачивания из полилактида. Для получения КИК культуру ММСК

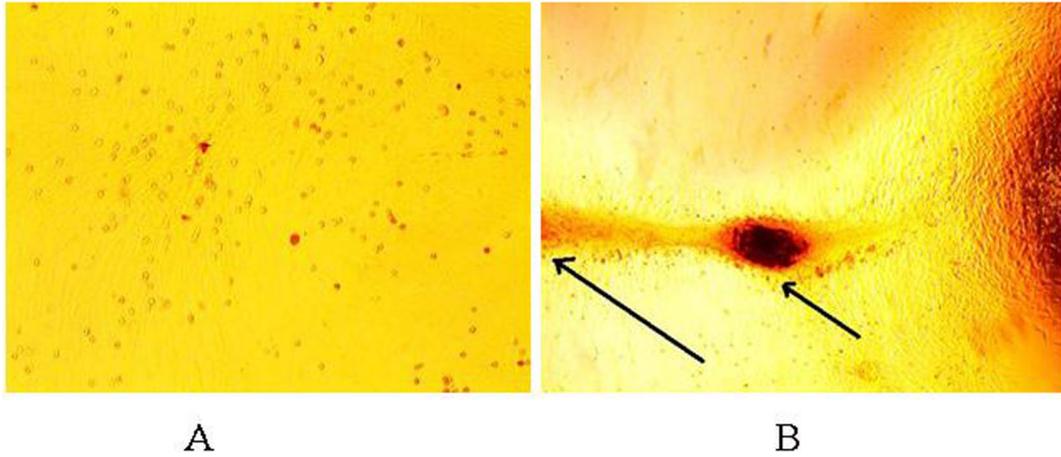


Рис. 1. Микрофотография культуры ММСК. Срок 12 суток. Световая микроскопия. Ув. 40 х. А – культура клеток без добавления фактора TGF-β-3, В – опытная культура, культивируемая в присутствии фактора TGF-β-3. Стрелками отмечены области формирования хондросфер
Fig. 1. MSC cell culture, 12 days growth. Light microscopy. Scale x40. A – cell culture without TGF-β-3 treatment, B – MSC cell culture treated with TGF-β-3. Areas of chondrosphere formation are shown by arrows

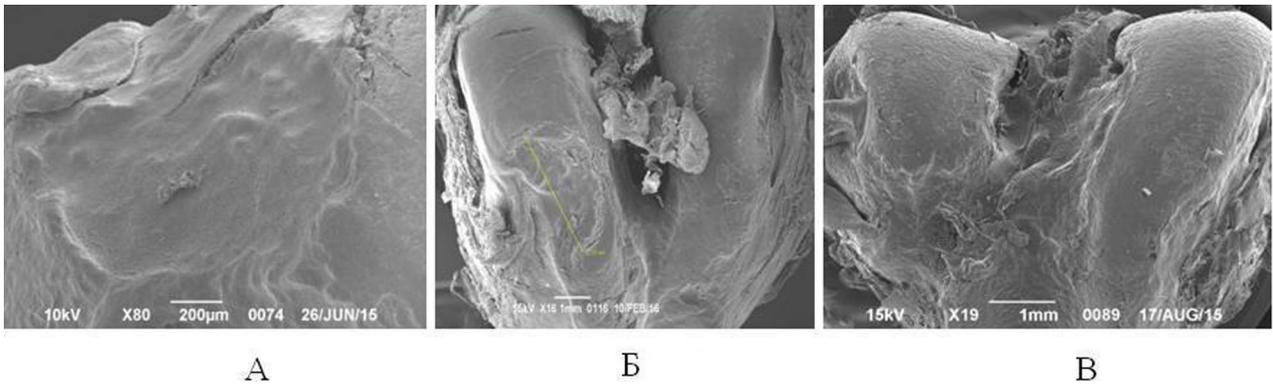


Рис. 2. Микрофотография препарата области дефекта на 14-е (А), 30-е (Б) и 90-е (В) сутки (контрольная группа). СЭМ. Контрольный штрих указан на рисунке
Fig. 2. Area of the defect after 14 days (A), 30 days (Б) and 90 days (B) (control group). SEM microscopy. The control stroke is shown on the figure

совмещали с полилактидной матрицей статическим методом. Заселение матрицы на всю глубину было подтверждено методом флюоресцентной микроскопии.

Исследование выполнено на 18 половозрелых самках крыс линии Wistar весом 200–250 г в возрасте 6 месяцев. Всем опытным животным формировали дефект гиалинового хряща коленного сустава глубиной 0,5 мм бором диаметром 1,0 мм с частотой вращения 40 об/с. Наружным парапателлярным доступом вскрывали суставную сумку, отодвигали надколенник, обнажали мышелки бедра и в положении сгибания коленного сустава формировали дефект хрящевой поверхности в нагружаемой зоне. Средний диаметр сформированных дефектов составил $1,21 \pm 0,01$ мм. Все животные были разделены на три группы: в контрольной

группе (n=6) создавали дефект без последующей трансплантации КИК, животным опытной группы 1 (n=6) в область дефекта трансплантировали КИК со стандартной культурой ММСК, животным опытной группы 2 (n=6) трансплантировали КИК с дифференцированной культурой ММСК. Далее коленный сустав разгибали, надколенник фиксировали на месте рассасывающейся нитью 3/0, суставную сумку и окружающие ткани послойно ушивали, на кожу накладывали швы по Хостеду. Животных помещали в стандартные условия содержания. Крыс содержали в клетках по 5 особей в условиях искусственного освещения (по 12 часов темного и светлого времени), принудительной 12-кратной в час вентиляции, при температуре 18–26 °С и относительной влажности 30–70 %.

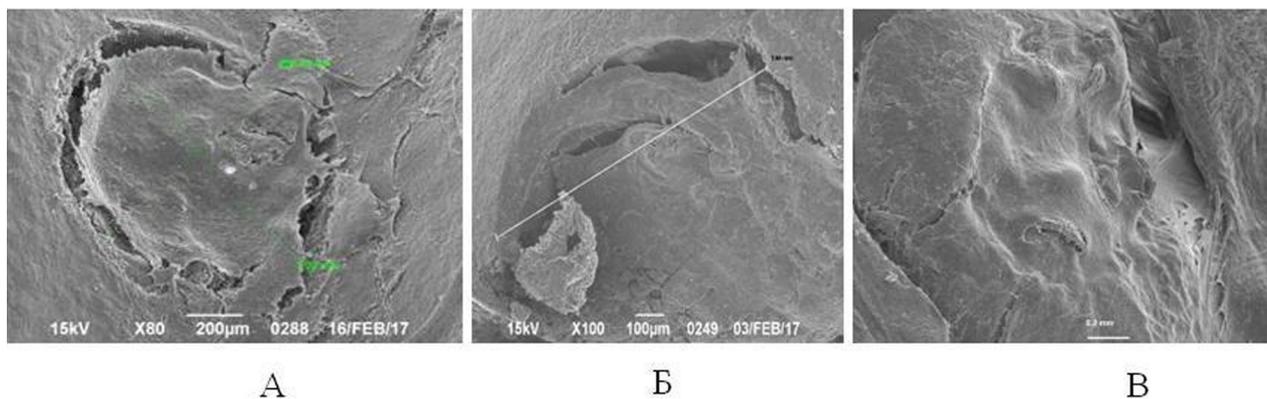


Рис 3. Микрофотография препарата области дефекта на 14-е (А), 30-е (Б) и 90-е (В) сутки (дефект + мембрана + ММСК, опытная группа 1). СЭМ. Контрольный штрих указан на рисунке

Fig. 3. Area of the defect after 14 days (A), 30 days (Б) and 90 days (В) (the defect + membrane + MSC, experimental group 1). SEM microscopy, MSC without TGF- β -3. The control stroke is shown on the figure

На 14-е, 30-е и 90-е сутки проводили эктаназию экспериментальных животных передозировкой раствора тиопентала натрия. Область поврежденной суставной поверхности выделяли единым блоком 6×6×3 мм и обезвоживали в спиртах восходящей концентрации для дегидратации. Исследования проводили методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ), контролем служила хрящевая поверхность интактного коленного сустава контрлатеральной конечности. СЭМ-исследования проводили на комплексе Jeol JSM 6390LA (Япония) совместно с ФГБУН «Ботанический институт им. В. Л. Комарова». Полученные образцы коленного сустава крысы предварительно обезвоживали в этиловых спиртах восходящей крепости, после чего подготовленные препараты помещали в вакуумную среду, где на поверхность напыляли частицы золота и палладия. Под действием электрического поля до 30 кВ пучок электронов, направленный на образцы, отклонялся, детектировался, и происходила пространственная (объемная) визуализация (до 0,4 нанометра) деструктивных изменений поверхности сустава. Методика позволила провести сравнительную визуальную оценку приповерхностных слоев хряща коленного сустава крысы.

Анализ статистической значимости различий показателей (диаметр дефекта и увеличение экспрессии генов) между группами не выполняли из-за малого количества наблюдений.

Результаты

Установлено, что культивирование *in vitro* ММСК в присутствии фактора TGF- β -3 приводило к хондрогенной дифференцировке, что выражалось в клеточной агрегации начиная

с 3-х суток, которая приводила к образованию хондросфер на 9-е сутки (рис. 1). Методом полимеразной цепной реакции в реальном времени было показано увеличение экспрессии генов *col2a1* и *Acan* в среднем в $4,0 \pm 0,2$ раза по сравнению с контрольным образцом на 21-е сутки наблюдения.

За время проведения эксперимента *in vivo* летальных исходов и воспалительных реакций у опытных животных не зафиксировано, нарушений функции оперированного сустава отмечено не было. В контрольной группе на 14-е сутки после вмешательства был отмечен явный симметричный дефект суставной поверхности со средним размером 1,2 мм, что соответствует диаметру исходного повреждения (рис. 2, А). Краевая зона визуализировалась явно, по всей окружности. По границам повреждения отмечалось незначительное образование деградационных поверхностных трещин. Дефект был покрыт новообразованным регенератом с незначительным присутствием нерегулярных структур, состав которых установить методикой СЭМ не представляется возможным.

К 30-м суткам в контрольной группе повреждение принимало несимметричную форму, со средним размером 2,26 мм, что превышало диаметр исходного дефекта на 84 % (рис. 2, Б). Краевая зона визуализировалась явно по всей окружности, за исключением тех мест, где дегградация гиалинового хряща распространилась до границы мышелка. По границам повреждения отмечались явные деструктивные изменения, связанные со значительным увеличением размера дефекта, как в глубину, так и в диаметре. Наличие вновь синтезированного внеклеточного матрикса не выявлено. Поверхность дефекта была несимметричной формы с визуально рыхлым содержимым, отмечалось

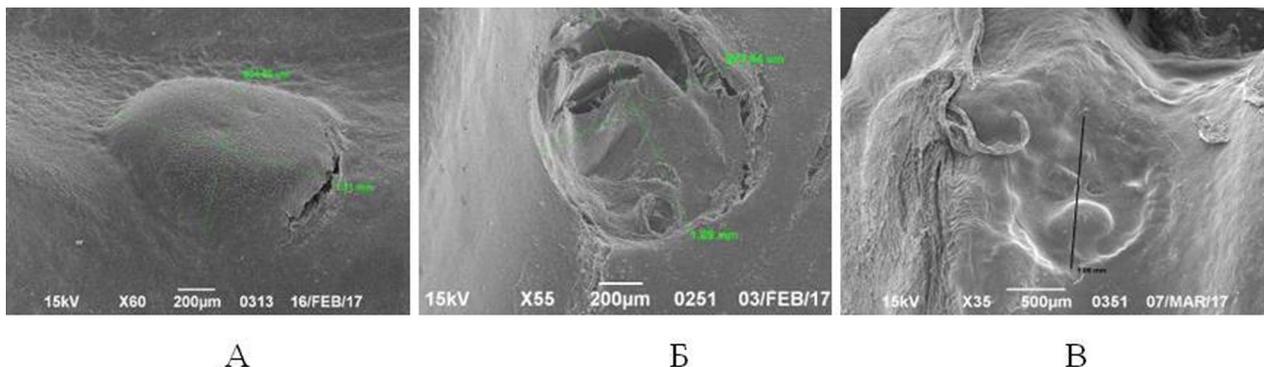


Рис 4. Микрофотография препарата области дефекта на 14-е (А), 30-е (Б) и 90-е (В) сутки. Опытная группа 2 (дефект + мембрана + дифференцированная культура ММСК). СЭМ. Контрольный штрих указан на рисунке
 Fig. 4. Area of the defect after 14 days (A), 30 days (Б) and 90 days (В). Experimental group 2 (the defect + membrane + MSC). SEM microscopy, MSC with TGF- β -3. The control stroke is shown on the figure

незначительное присутствие нерегулярных структур, а также зафиксирована деградация верхнего клеточного слоя.

На 90-е сутки наблюдалось повреждение суставной поверхности значительной части мыщелка (рис. 2, В). Краевая зона визуализировалась неявно, часть мыщелка полностью деградировала, глубина дефекта увеличилась до субхондрального слоя, поперечный размер повреждения в 2 раза превышал диаметр исходного дефекта.

В опытной группе 1 на 14-е сутки после трансплантации КИК определялось симметричное повреждение суставной поверхности, со средним размером 0,93 мм, что на 24 % меньше исходно сформированного дефекта (рис. 3, А). Краевая зона определялась явно, по всей окружности, как и в контрольной группе. По границам повреждения отмечались краевые трещины, в глубине которых частично визуализировалась КИК. Радиальных трещин и явных деструктивных изменений определено не было, в отличие от контрольной группы.

На 30-е сутки повреждение суставной поверхности сохраняло округлую форму со средним размером 1,04 мм, что меньше исходного на 15 % (рис. 3, Б). Краевая зона и краевые трещины на границе повреждения визуализировались явно, местами просматривалась пористая структура КИК, деструктивных изменений обнаружено не было. Поверхность дефекта вдавлена, несимметричной формы с рыхлым содержанием, с присутствием нерегулярных структур.

На 90-е сутки повреждение суставной поверхности сохраняло округлую форму, поперечный размер соответствовал исходному (1,23 мм) (рис. 3, В). Краевая зона визуализировалась практически по всей окружности. По границе повреждения отмечались единич-

ные неглубокие краевые трещины, а также значительные радиальные трещины. Биodeградируемая мембрана, по-видимому, была покрыта вновь образовавшимся регенератом, вследствие чего не визуализировалась. Поверхность дефекта неровная с плотным содержанием, с присутствием нерегулярных структур.

В опытной группе 2 на 14-е сутки сформированный дефект также сохранял симметричную форму, средний размер составил 1,00 мм, что меньше исходного размера сформированного дефекта на 18 % (рис. 4, А). Краевая зона визуализировалась явно, но не по всей окружности. По границе КИК-хрящ определялась единичная краевая трещина, в которой визуализировалась биodeградируемая мембрана, радиальных трещин и явных деструктивных изменений обнаружено не было. В центральной части дефекта отмечалась предположительно активная клеточная пролиферация. Размер клеточных элементов составлял 10 мкм, форма клеток была сферическая с тенденцией к распластыванию. Отмечалась миграция клеток из зоны дефекта на интактный неповрежденный хрящ. Поверхность дефекта симметричной формы с рыхлым содержанием без нерегулярных структур.

На 30-е сутки в опытной группе 2 дефект сохранял округлую форму, его средний размер составил 1,00 мм, что меньше исходного размера дефекта (1,21 мм) на 18 % (рис. 4, Б). Краевая зона визуализировалась явно за счет краевых трещин, количество которых увеличилось по сравнению со сроком наблюдения 14 суток в этой группе. Радиальных трещин и выраженных деструктивных изменений визуализировано не было. В центральной части дефекта отмечались предположительно клеточные элементы, с размером примерно 15 мкм и миграцией из зоны дефекта на незаполнен-

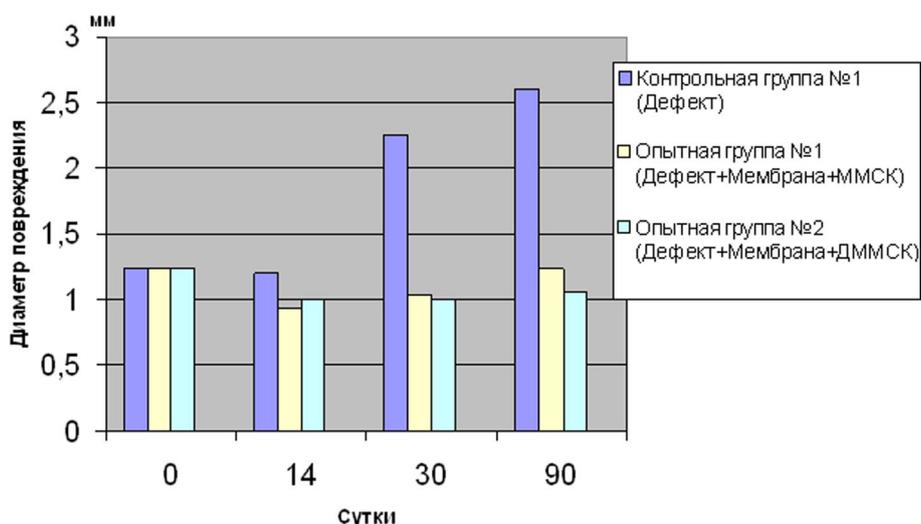


Рис. 5. Диаметр повреждения в разных группах наблюдения

Fig. 5. Diameter of the defect according to observation date and experimental group

ные участки поврежденной суставной поверхности. Поверхность дефекта была вдавленная с клеточным содержимым на поверхности КИК.

На 90-е сутки в опытной группе 2 на месте сформированного дефекта отмечалось неявное округлой формы неглубокое вдавление суставной поверхности со сглаженными краями средним размером 1,06 мм, который на 13 % меньше исходного (рис. 4, В). По границе повреждения отмечались неглубокие сглаженные тонкие борозды – возможно, следы бывших краевых трещин; радиальных трещин и каких-либо деструктивных изменений не визуализировано. Трансплантированная КИК поверхностно не визуализировалась. Форму клеток в центре повреждения и по его краям установить не удалось, так как клеточные структуры были покрыты большим слоем предположительно вновь образованного внеклеточного матрикса, что говорит об увеличенном синтезе последнего. Поверхность дефекта гладкая, визуально схожая с интактным неповрежденным хрящом.

По результатам исследования при сроке наблюдения 14 суток во всех группах отмечалось незначительное уменьшение размера повреждения. Данный факт связан с образованием временного регенерата в области повреждения, следствием которого было уменьшение диаметра дефекта. На 30-е сутки в контрольной группе данный регенерат подвергался деградации с увеличением размера повреждения на 84 %, в опытных группах размер повреждения остался прежним. На 90-е сутки наблюдения данная тенденция сохранялась, в контрольной группе размер дефекта увеличился на 126 % и достиг границ мышечка, в опытных группах диаметр повреждения практически

не изменился. На основании полученных данных можно составить диаграмму зависимости диаметра повреждения от срока наблюдения и типа группы (рис. 5).

Обсуждение

Применение модифицированной культуры клеток в составе КИК для восстановления поврежденной поверхности гиалинового хряща является перспективным и динамично развивающимся направлением экспериментальной медицины, которое, однако, недостаточно изучено отечественными исследователями. В имеющихся публикациях исследователи в первую очередь изучают биосовместимость изучаемых экспериментальных КИК [Севастьянов и др., 2017]. В нашей работе изучалась безопасность исследуемых КИК на основе полилактидных матриц-носителей, и не было получено данных о тканевых реакциях воспалительного характера или признаков отторжения инородного материала, что свидетельствует о биосовместимости исследуемой матрицы.

В ходе экспериментов удалось получить четырехкратное увеличение уровня экспрессии основных генов ВКМ гиалинового хряща, тем не менее полученные результаты в группе с применением КИК с культурой дифференцированных хондробластов не позволили полностью заместить сформированный дефект суставного хряща. Вероятно, это свидетельствует о необходимости еще большего увеличения синтеза белков ВКМ, что может потребовать разработки способа не просто стимуляции дифференцировки, а модификации культуры клеток. Одним из таких, на наш взгляд, пер-

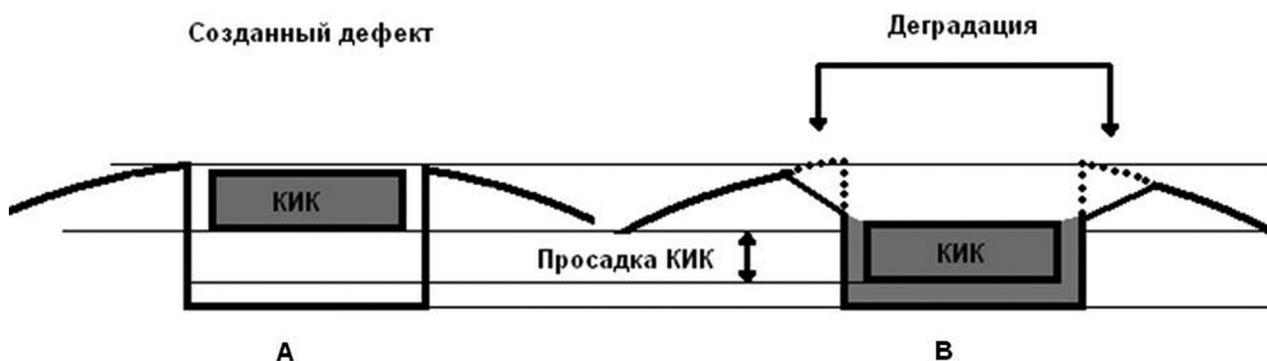


Рис. 6. Схематичное изображение созданного повреждения и КИК: сразу после создания повреждения и трансплантации КИК (А); в отдаленные сроки (В)

Fig. 6. Schema of created damage and CES: immediately after damage creation and CES transplantation (A); and in the long-term observations (B)

спективных способов является генетическая модификация с помощью последовательностей TGF- β -3 и (или) BMP2, при которой процесс трансфекции проходил *in vivo* в области трансплантации альгинатного гидрогеля, содержащего соответствующие плазмиды [Gonzalez-Fernandez et al., 2016].

Изучение перифокальных изменений в области созданного повреждения на разных сроках наблюдения и разных группах позволило выявить некоторые общие закономерности. Во всех исследуемых группах на поздних сроках наблюдалось «проседание» экспериментальных КИК и признаки краевой деградации гиалинового хряща, наиболее выраженные в контрольной группе и наименее – при использовании КИК с дифференцированной культурой хондробластов (рис. 6), что проявлялось в первую очередь увеличением диаметра повреждения при увеличении срока наблюдения в контрольной группе и опытной группе 1.

Аналогичные результаты были получены в работе Dai с соавт. [2014], где при моделировании дефектов гиалинового хряща у кроликов при использовании ММСК и биодegradуемого носителя авторы отмечали восстановление поверхностного слоя хрящевой поверхности на длительных сроках наблюдения. С учетом имеющихся данных об отсутствии восстановления поверхностного слоя хрящевой поверхности вне зависимости от размера первоначального повреждения гиалинового хряща крысы [Божокин и др., 2017] применение технологии восстановления хряща с трансплантацией КИК представляется перспективным.

Следует отметить существенное различие поверхностного строения регенерата на больших сроках наблюдения в наших исследованиях, где по краям повреждения наблюдались отдельные радиальные деградиционные тре-

щины, и в работе, проведенной Л. Т. Воловой с соавт., которые отмечали формирование органотипичной гиалиновой хрящевой ткани по всей поверхности повреждения в экспериментах на кроликах с применением диминерализованной спонгиозы и культуры аллогенных клеток [Волова и др., 2012].

Данное исследование выявило ряд недостатков, требующих устранения в последующих экспериментах. В обеих опытных группах отмечены краевые трещины по окружности повреждения. По-видимому, это следствие недостаточной фиксации КИК к краям дефекта и малого объема КИК, проседание которой наблюдалось с увеличением сроков эксперимента. При действии нагрузки на поверхность сустава часть ее распределяется на трансплантированную КИК, что приводит к ее уплощению и проседанию на дно дефекта, вызывая при этом разрыв регенерата на границе неповрежденный хрящ – КИК. В опытной группе 2 на 90-е сутки была отмечена единичная краевая трещина, в отличие от опытной группы 1, где они присутствовали по всей окружности повреждения. Данный факт свидетельствует о том, что модифицированная КИК менее подвержена деформации с течением времени, чем КИК без клеточной модификации. Для получения более точных результатов в дальнейшей работе мы планируем проведение морфологических исследований. Тем не менее для получения первичной информации, динамики протекания процессов и внешней визуализации поверхностных изменений на первом этапе исследований СЭМ-методика является эффективной.

Наше исследование имеет ряд ограничений: малое количество наблюдений на каждый срок исследования, отсутствие морфологического исследования, которое позволило бы дать достоверный ответ о природе, строении и составе той или иной структуры.

Заключение

Использованная в данном исследовании методика культивирования и разработанный протокол направленной дифференцировки с применением белкового фактора роста TGF- β -3 позволил существенно увеличить уровень экспрессии основных генов ВКМ гиалинового хряща и достичь дифференцировки ММСК в хондробласты *in vitro*. При замещении дефектов суставной поверхности КИК наибольшую эффективность продемонстрировало использование клеточно-инженерной конструкции с дифференцированной культурой ММСК, применение которой способствовало замедлению деградационных процессов и уменьшению размера повреждения на отдаленных сроках наблюдения. Одновременно с этим данное исследование выявило некоторые недостатки использования экспериментальной КИК, что определило необходимость в будущих исследованиях увеличить объем используемой матрицы и обеспечить тщательную адгезию КИК к неповрежденным участками суставной поверхности.

Литература

Божкова С. А., Буянов А. Л., Кочиш А. Ю., Румакин В. П., Хрипунов А. К., Нетьлько Г. И., Смыслов Р. Ю., Афанасьев А. В., Панарин Е. Ф. Перифокальные тканевые реакции на имплантацию образцов гидрогелевого материала на основе полиакриламида с добавлением целлюлозы (экспериментальное исследование) // Морфология. 2016. Т. 149, № 2. С. 47–53.

Божокин М. С., Божкова С. А., Нетьлько Г. И. Возможности современных клеточных технологий для восстановления поврежденного суставного хряща (Аналитический обзор литературы) // Травматология и ортопедия России. 2016. № 3. С. 122–134. doi: 10.21823/2311-2905-2016-22-3-122-134

Божокин М. С., Божкова С. А., Нетьлько Г. И., Румакин В. П., Наконечный Г. И., Чепурненко М. Н. Морфофункциональная характеристика хондрогенераторного процесса в экспериментальном локальном дефекте поверхности суставного хряща // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2017. № 8–2. С. 302–306.

References

Bozhkova S. A., Buyanov A. L., Kochish A. Yu., Rumakin V. P., Hripunov A. K., Netyl'ko G. I., Smyslov R. Yu., Afanas'ev A. V., Panarin E. F. Perifokal'nye tkanevye reaktsii na implantatsiyu obraztsov gidrogelevogo materiala na osnove poliakrilamida s dobavleniem tsellyulozy (eksperimental'noe issledovanie) [Perifocal

Волова Л. Т., Котельников Г. П., Тертерян М. А. Эффективность совместного применения клеточных и тканевых биотехнологий для восстановления суставной гиалиновой ткани // Вестник неотложной и восстановительной медицины. 2012. Т. 13. С. 44–47.

Григорян А. С., Деев Р. В., Кругляков П. В., Библина А. А., Соколова И. Б., Павличенко Н. Н., Полинцев Д. Г. Применение трансплантатов, содержащих мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, для восстановления поврежденных суставных поверхностей в эксперименте // Гены и клетки. 2010. № 5(2). С. 44–55.

Новоцадов В. В. Проблема управления клеточным заселением и ремоделированием тканеинженерных матриц для восстановления суставного хряща (обзор литературы) // Вестник Волгоградского гос. ун-та. Естественные науки. 2013. № 1(5). С. 19–28.

Севастьянов В. И., Басок Ю. Б., Григорьев А. М., Кирсанова Л. А., Василец В. Н. Применение технологии тканевой инженерии для формирования хрящевой ткани человека в проточном биореакторе // Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2017. Т. 19, № 3. С. 81–92.

Bekkers J. E., Tsuchida A. I., van Rijjen M. H., Vonk L. A., Dhert W. J., Creemers L. B., Saris D. B. Single-stage cell-based cartilage regeneration using a combination of chondrons and mesenchymal stromal cells: comparison with microfracture // Am. J. Sports Med. 2013. Vol. 41, no. 9. P. 2158–2166. doi: 10.1177/0363546513494181

Gonzalez-Fernandez T., Tierney E., Cunniffe G., Kelly D. J. Gene Delivery of TGF- β 3 and BMP2 in an MSC-Laden Alginate Hydrogel for Articular Cartilage and Endochondral Bone Tissue Engineering // Tissue Eng. Part A. 2016. Vol. 22. P. 776–787. doi: 10.1089/ten.TEA.2015.0576

Dahlin R. L., Ni M., Meretoja V. V., Kasper F. K., Mikos A. G. TGF- β 3-induced chondrogenesis in co-cultures of chondrocytes and mesenchymal stem cells on biodegradable scaffolds // Biomaterials. 2014. Vol. 35. P. 123–132. doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.09.086

Dai L., He Z., Zhang X., Hu X., Yuan L., Qiang M., Zhu J., Shao Z., Zhou C., Ao Y. One-step repair for cartilage defects in a rabbit model: a technique combining the perforated decalcified cortical-cancellous bone matrix scaffold with microfracture // Am. J. Sports Med. 2014. Vol. 42, no. 3. P. 583–591. doi: 10.1177/0363546513518415

Поступила в редакцию 12.03.2018

vosstanovleniya povrezhdennogo sustavnogo khryashcha (analiticheskii obzor literatury) [Possibilities of current cellular technologies for articular cartilage repair (analytical review)]. *Traumatologiya i ortopediya Rossii* [Traumatology and Orthopedics of Russia]. 2016. No. 3. P. 122–134. doi: 10.21823/2311-2905-2016-22-3-122-134

Bozhokin M. S., Bozhkova S. A., Netyl'ko G. I., Rumakin V. P., Nakonechnyj G. I., Chepurnenko M. N. Morfofunktsional'naya kharakteristika khondroregeneratorsnogo protsessa v eksperimental'nom lokal'nom defekte poverkhnosti sustavnogo khryashcha [Morphofunctional characteristic of hondroregenerating process for articular cartilage injuries]. *Mezhd. zhurn. prikl. i fund. issled.* [Int. J. Appl. and Fund. Res.]. 2017. No. 8–2. P. 302–306.

Grigoryan A. S., Deev R. V., Kruglyakov P. V., Bilibina A. A., Sokolova I. B., Pavlichenko N. N., Polynceev D. G. Primenenie transplantatov, sodержashchikh mul'tipotentnye mezenkhimal'nye stromal'nye kletki, dlya vosstanovleniya povrezhdennykh sustavnykh poverkhnostei v eksperimente [The use of grafts containing multipotent mesenchymal stromal cells to repair damaged joint surfaces in an experiment]. *Geny i kletki* [Genes and Cells]. 2010. Vol. 5, no. 2. P. 44–55.

Novochadov V. V. Problema upravleniya kletochnym zaseleniem i remodelirovaniem tkaneinzhenernykh matrits dlya vosstanovleniya sustavnogo khryashcha (obzor literatury) [The control of the cell settlement and scaffold remodeling in cartilage tissue engineering: a review]. *Vestnik Volgograd. gos. univ. Estest. nauki* [Bull. Volgograd St. Univ. Nat. Sci.]. 2013. Vol. 1, no. 5. P. 19–28.

Sevast'yanov V. I., Basok Yu. B., Grigor'ev A. M., Kirsanova L. A., Vasilec V. N. Primenenie tekhnologii tkanevoi inzhenerii dlya formirovaniya khryashchevoi tkani cheloveka v protochnom bioreaktore [Application of tissue engineering technology for the formation of human cartilage in a flow bioreactor]. *Vestnik transpl.*

i iskusstvennykh organov [Bull. Transplantology and Artificial Organs]. 2017. Vol. 19, no. 3. P. 81–92.

Volova L. T., Kotel'nikov G. P., Terteryan M. A. Effektivnost' sovmestnogo primeneniya kletochnykh i tkanevykh biotekhnologii dlya vosstanovleniya sustavnoi gialinovoii tkani [Efficiency of combined application of cell and tissue biotechnologies for regenerating hyaline cartilage tissue]. *Vestnik neotlozhnoi i vosstanovitel'noi meditsiny* [Bull. Emergency and Rehabilitation Medicine]. 2012. Vol. 13. P. 44–47.

Bekkers J. E., Tsuchida A. I., van Rijien M. H., Vonk L. A., Dhert W. J., Creemers L. B., Saris D. B. Single-stage cell-based cartilage regeneration using a combination of chondrons and mesenchymal stromal cells: comparison with microfracture. *Am. J. Sports Med.* 2013. Vol. 41, no. 9. P. 2158–2166. doi: 10.1177/0363546513494181

Gonzalez-Fernandez T., Tierney E., Cunniffe G., Kelly D. J. Gene Delivery of TGF- β 3 and BMP2 in an MSC-Laden Alginate Hydrogel for Articular Cartilage and Endochondral Bone Tissue Engineering. *Tissue Eng. Part A.* 2016. Vol. 22, no. 9–10. P. 776–787. doi: 10.1089/ten.TEA.2015.0576

Dahlin R. L., Ni M., Meretoja V. V., Kasper F. K., Mikos A. G. TGF- β 3-induced chondrogenesis in co-cultures of chondrocytes and mesenchymal stem cells on biodegradable scaffolds. *Biomaterials.* 2014. Vol. 35. P. 123–132. doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.09.086

Dai L., He Z., Zhang X., Hu X., Yuan L., Qiang M., Zhu J., Shao Z., Zhou C., Ao Y. One-step repair for cartilage defects in a rabbit model: a technique combining the perforated decalcified cortical-cancellous bone matrix scaffold with microfracture. *Am. J. Sports Med.* 2014. Vol. 42, no. 3. P. 583–591. doi: 10.1177/0363546513518415

Received March 12, 2018

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Божокин Михаил Сергеевич

лаборант-исследователь
Российский научно-исследовательский институт
травматологии и ортопедии имени Р. Р. Вредена
ул. Академика Байкова, 8, Санкт-Петербург, Россия,
195427

эл. почта: writeback@mail.ru

тел.: +79523636173

Божкова Светлана Анатольевна

профессор каф. травматологии и ортопедии,
заведующая науч. отд. профилактики и лечения раневой
инфекции и отд. клинической фармакологии, д. м. н.
Российский научно-исследовательский институт
травматологии и ортопедии имени Р. Р. Вредена
ул. Академика Байкова, 8, Санкт-Петербург, Россия,
195427

эл. почта: clinpharm-rniito@yandex.ru

CONTRIBUTORS:

Bozhokin, Mikhail

Russian Scientific Research Institute of Traumatology
and Orthopedics named after R. R. Vreden
8 Academician Baikov St., 195427 St. Petersburg, Russia
e-mail: writeback@mail.ru

Bozhkova, Svetlana

Russian Scientific Research Institute of Traumatology
and Orthopedics named after R. R. Vreden
8 Academician Baikov St., 195427 St. Petersburg, Russia
e-mail: clinpharm-rniito@yandex.ru

Нетылько Георгий Иванович

заведущий экспериментально-морфологическим отд.,
д. м. н.
Российский научно-исследовательский институт
травматологии и ортопедии имени Р. Р. Вредена
ул. Академика Байкова, 8, Санкт-Петербург, Россия,
195427
эл. почта: doctornetylko@mail.ru

Наконечный Дмитрий Георгиевич

заведущий отд. № 8, к. м. н.
Российский научно-исследовательский институт
травматологии и ортопедии имени Р. Р. Вредена
ул. Академика Байкова, 8, Санкт-Петербург, Россия,
195427
эл. почта: dnakonechny@mail.ru

Блинова Миральда Ивановна

ведущий научный сотрудник центра клеточных технологий,
к. б. н.
Институт цитологии РАН
Тихорецкий пр., 4, Санкт-Петербург, Россия, 194064
эл. почта: mira.blinova@mail.ru

Нащекина Юлия Александровна

научный сотрудник центра клеточных технологий, к. б. н.
Институт цитологии РАН
Тихорецкий пр., 4, Санкт-Петербург, Россия, 194064
эл. почта: ulychka@mail.ru

Netyl'ko, Georgy

Russian Scientific Research Institute of Traumatology
and Orthopedics named after R. R. Vreden
8 Academician Baikov St., 195427 St. Petersburg, Russia
e-mail: doctornetylko@mail.ru

Nakonechnyj, Dmitry

Russian Scientific Research Institute of Traumatology
and Orthopedics named after R. R. Vreden
8 Academician Baikov St., 195427 St. Petersburg, Russia
e-mail: dnakonechny@mail.ru

Blinova, Miral'da

Institute of Cytology, Russian Academy of Sciences
4 Tikhoretsky Ave., 194064 St. Petersburg, Russia
e-mail: mira.blinova@mail.ru

Nashchekina, Yulia

Institute of Cytology, Russian Academy of Sciences
4 Tikhoretsky Ave., 194064 St. Petersburg, Russia
e-mail: ulychka@mail.ru