



УДК 616.72-018.3 : 577.3  
ББК 28.07

## ПРОБЛЕМА УПРАВЛЕНИЯ КЛЕТОЧНЫМ ЗАСЕЛЕНИЕМ И РЕМОДЕЛИРОВАНИЕМ ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫХ МАТРИЦ ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ СУСТАВНОГО ХРЯЦА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

*В.В. Новочадов*

Представлен обзор новейшей зарубежной литературы, систематизирующий сведения об основных источниках клеток, требованиях к материалам для тканеинженерных матриц (скаффолдов) и основных технологиях их изготовления. В качестве наиболее перспективных отмечены технологии, основанные на получении и использовании нанокompозитов пористой и волокнистой структуры. Выделены три основных управляющих воздействия на механизмы заселения и последующего ремоделирования скаффолда: придание его структуре заранее заданных свойств управления, подключение факторов роста и других молекул-регуляторов, а также использование механических и физических воздействий.

**Ключевые слова:** *суставной хрящ, тканевая инженерия, скаффолды, факторы роста, наноматериалы.*

Восстановление поврежденных и утраченных тканей суставного хряща относится к серьезнейшим проблемам современной регенеративной медицины. В основе этого лежит хорошо очерченный комплекс биологических и социальных причин [1; 4; 13; 36]: исходно низкая способность суставного хряща к регенерации, возрастающая продолжительность и качество жизни и, как следствие, стремительный рост доли пожилых людей с потребностью в активном образе жизни, «травматическая» эпидемия в связи с экспансией технологий во все сферы профессиональной деятельности и быта, а также вызовы экстремизма.

Классические подходы, основанные на замещении дефектов ауто- или гомологичным материалом или на стимуляции собственного регенераторного потенциала тканей, подлежащих к суставному хрящу, имеют ряд неустраняемых ограничений, недостатков и не обеспечивают адекватного восстановления полноценной функции сустава на длительный срок [1; 9].

Адекватное решение проблемы видится в формате физико-химической биологии,

то есть при подключении современных молекулярных тканеинженерных технологий [17; 36]. В этом подходе неизбежна комбинация новейших биосовместимых хондроиндуктивных материалов с механизмами управления всеми процессами, необходимыми для формирования функционально полноценного суставного хряща.

**Цель работы.** На основе аналитического обзора и систематизации современной мировой литературы разработать концепцию управления заселением тканевых матриц (скаффолдов), их последующего ремоделирования в хрящевой матрикс в регенеративной биомедицине суставов.

### 1. Концепция тканевой инженерии

Тканевая инженерия (в совокупности с регенеративной медициной, основанной на использовании стволовых клеток) – междисциплинарная научная область, имеющая за плечами немалым более чем 20-летнюю историю развития. Она основана на принципах и методах инженерии и использует новейшие достижения материаловедения, химии, биологии и биоинформатики для разработки биологических заменителей,

которые восстанавливают, сохраняют и улучшают функции поврежденных тканей (см. рис. 1).

Тканеинженерные конструкции должны обладать биомиметическими свойствами, то

есть быть биосовместимыми, иметь адекватные физико-химические характеристики и в идеале со временем замещаться на собственные ткани организма [22; 36].



Рис. 1. Тканевая инженерия суставного хряща: технологии и основные управляющие воздействия

**2. Источники клеток для восстановления суставного хряща**

Несмотря на то, что основная идея обзора состоит в попытке обобщения и регламентации

управляющих воздействий на жизнедеятельность клеток в тканеинженерных конструкциях, мы не могли не обойти стороной вопрос об источниках и свойствах этих клеток. Для удобства основные факты сведены в таблицу 1.

Таблица 1

**Характеристика основных источников клеток для тканевой инженерии хряща**

Источник получения	Применения для тканевой инженерии хряща	
	Достоинства	Недостатки
<b>Хондроциты [9; 16; 17] *</b>		
Хрящ другого человека или животного	Хорошая апробация на практике, соответствие всем требованиям к клеточным технологиям	Иммунный ответ и перенос инфекционного материала, риск дедифференцировки
Собственный хрящ		Ограниченная доступность, риск дедифференцировки клеток при культивировании
<b>Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) [4; 24; 36] *</b>		
Собственные ткани: костный мозг, жировая ткань, синовиальная оболочка, надкостница, кожа и др.	Доступность, высокая пролиферативная активность и способность к хондроиндукции	Формирование смешанных тканей при отклонении от хондральной дифференцировки, необходимость нескольких управляющих воздействий, недостаточная клиническая апробация
<b>Эмбриональные стволовые клетки [19; 34] *</b>		
Аллогенный эмбриональный материал	Легкость получения больших объемов клеток после управляемой пролиферации и дифференцировки	Все проблемы аллогенности, возможность к неуправляемому росту с формированием тератом и злокачественных опухолей, неурегулированность этических и правовых вопросов
<b>Другие виды клеток: дермальные фибробласты [18] *</b>		
Собственная кожа	Доступность и относительная малоинвазивность забора материала	Достаточно сложная процедура селекции клеток, склонных к индукции хондрального фенотипа

\* Приведены только избранные итоговые отчеты и обзорные работы.

Из перечисленных источников клеток на сегодняшний день клинически наиболее апробированы технологии, использующие пересадку аутогенных хондроцитов человека, а максимальный прорыв ожидается после завершения клинических апробаций и широкой экспансии методик, основанных на управляемой хондральной дифференцировке аутологичных мезенхимальных стволовых клеток (далее – МСК) [24]. Усилия исследователей и разработчиков в данной области в настоящее время направлены на оптимизацию условий культивирования МСК, управление механизмами их хондрогенной дифференцировки с помощью факторов роста и механических стимулов, регенерации в составе биомиметических конструкций и получение хороших доказательств при клинических испытаниях.

### 3. Требования к скаффолдам и материалы для их изготовления

Одной из ключевых проблем при использовании даже идеального источника клеточного материала является необходимость создания подходящего искусственного биомиметического матрикса. Собственный экстрацеллюлярный матрикс (далее – ЭЦМ) хряща выполняет множество структурных и регулирующих функций, включая участие в органогенезе, адаптации, физиологической и репаративной регенерации после повреждения. Он имеет наноразмерную структуру, которая формирует уникальное микроокружение для каждой клетки [1]. Внимание к свойствам ЭЦМ хряща получило новое развитие, после того, как были раскрыты молекулярные пути сигнализации между механическими воздействиями на клетки и регуляцией их дифференцировки с участием трансформирующего фактора роста- $\beta$  (TGF- $\beta$ ). Это привело к развитию технологий, учитывающих управления химической сигнализацией в клетках за счет варьирования механических свойств ЭЦМ [14].

Первичные тканезамещающие компоненты (скаффолды) могут использоваться и для выращивания полного гибридного композита в специальных биореакторах, но это относится к крайне дорогостоящим технологиям, не имеющим пока широкой перспективы в реальном секторе биомедицины. Основная

технология использования скаффолдов – заселение клетками непосредственно перед имплантацией или во время нее [21]. Оба подхода имеют свои достоинства и недостатки, но объединены механизмом формирования хрящевой ткани. Оно происходит за счет миграции и размещения в объеме скаффолда стволовых и прогениторных клеток, их последующей дифференцировки и синтеза матрикса *de novo*, частично за счет биодеградации вещества матрицы. Принципиальный успех на первом этапе зависит от позитивного и негативного отбора клеток, заселяющих матрицу. Это предполагает необходимость определенного молекулярного управления этими событиями. Считая, что первое управляющее воздействие заложено в самой конструкции скаффолда (1), для успеха тканевой инженерии хряща, как правило, необходимо подключать еще два механизма: факторы роста (2) и механическую и физическую стимуляцию (3).

Основные требования, которые предъявляются к современным материалам для создания скаффолдов (каркаса будущих тканей): полная биологическая совместимость; объемная пористая структура, поддерживающая миграцию, заселение и последующую жизнедеятельность клеток; способность к естественной резорбции с трансформацией в натуральный ЭЦМ; приемлемые механические и физико-химические свойства [17; 36].

На сегодняшний день для изготовления скаффолдов в тканевой инженерии хряща используется достаточно широкий спектр материалов, которые условно разделяют на естественные и синтетические полимеры, а также их гибриды. В таблице 2 представлены наиболее широко применяемые продукты.

Из естественных полисахаридов наиболее популярны гиалуронат и модифицированный хондроитинсульфат – хитозан. Доступность сырья, легкость улучшения физико-химических свойств с помощью энзиматической обработки, а также крайне высокие биомиметические характеристики получаемых скаффолдов делают хитозан перспективным для тканевой инженерии суставов [6; 27]. Он хорошо сополимеризуется с другими материалами, формируя пористые композиты с адекватными механическими характеристиками и способностью к адгезии и пролиферации клеток [8; 20].

Белковые материалы для скаффолдов: коллаген, биodeградируемый фибрин, фиброин шелка различного происхождения обладают хорошим потенциалом для регенеративной медицины хрящевой ткани, но в современных разработках фигурируют в основном в составе комбинированных продуктов [22].

Причины растущего интереса со стороны ученых к синтетическим скаффолдам для тканевой инженерии хряща: простота их изготовления и химической модификации, хорошая биосовместимость, высокая универсальность, подходящие механические свойства и контролируемая способность к хондроиндукции. Наиболее популярны полимолочная, полигликолевая кислоты и их сополимеры. Они обладают регулируемой и высокой прочностью, способностью поддерживать фенотипическую экспрессию хондроцитов, неплохо сополимеризуются с белками, хорошо пропускают к клеткам сигнальные молекулы. Относительно слабые исходные адгезивные свойства и недостаточную хондроиндуктивную активность можно корректировать сополимеризацией и добавлением соответствующих факторов роста [6; 36].

Вопрос необходимости совмещения в современном скаффолде нескольких веществ, обеспечивающих как «мягкие» свойства биосовместимого носителя для заселяющихся клеток, так и «жесткие» – трехмерного опорного каркаса, уже не представляется дискуссионным.

Хотя использование наноматериалов для изготовления скаффолдов находится, скорее, в зачаточном состоянии, они уже признаются практически идеальными имитаторами ЭЦМ хряща. Во-первых, нановолокна похожи по своему строению на большинство молекул ЭЦМ хряща матрикса – белков и протеогликанов, в связи с чем обладают способностью повышать адгезию, пролиферацию и дифференцировку [13; 21]. Для оптимизации этих свойств было предложено несколько методов, в том числе включение функциональных групп (тиолатных, акрилатных, тирамина) и использование композитов (коллаген-полиакриламид, альгинат-полиакриламид, агароза-полиэтиленгликоль и т. п.) [17; 25]. Во-вторых, нановолокна скаффолда могут иметь переменную пористость (60 % – 95 %) и диаметр пор (от 10–20 нм до нескольких мкм), которые можно варьировать, изменяя условия их производства [36].

Таблица 2

**Характеристика основных материалов для изготовления скаффолдов в тканевой инженерии хряща**

Материал	Применения для тканевой инженерии хряща	
	Клетки	Уровень разработки
Природные полисахариды [6; 7; 15; 22; 23; 27] *		
Альгинат	Хондроциты, МСК, эмбриональные стволовые клетки	Эксперименты <i>in vivo</i>
Агароза		Эксперименты <i>in vivo</i>
Гиалуронат		Клинические испытания (Hyaff-11)
Хитозан		Клинические испытания (BST-CarGel)
Природные белки [16; 26; 36] *		
Коллаген	Аутологичные хондроциты, МСК	Клинические испытания (MACI®, Genzyme)
Фибрин	Аутологичные хондроциты	Клинические испытания в составе комбинаций материалов
Синтетические материалы [3; 6; 22; 26; 36] *		
Полигликолевые, полимолочные кислоты и их сополимеры	Практически все источники клеток	Клинические испытания
Поликапролактон и полиэтиленгликоли		Эксперименты <i>in vivo</i>
Наноструктурированные материалы [2; 5; 17; 31] *		
Модифицированные природные и синтетические полимеры в виде гелей, нановолокон или нанопористых губок	Аутологичные хондроциты и МСК	Эксперименты <i>in vivo</i>

\* Приведены только избранные итоговые отчеты и обзорные работы.

Таким образом, в настоящее время имеется достаточный арсенал материалов с высокой биосовместимостью и механическими свойствами, которые все более походят на свойства собственного ЭЦМ хряща и стимулируют его образование *in vivo*. Новые возможности открывает использование наноструктурных форм материалов и композитов, уже апробированных для изготовления скаффолдов в классической микромерной структуре. Именно использование этих новых методик, позволяющих в итоге получить из классических материалов наноструктурированные полимеры, придает материалам скаффолда заранее заданное уникальное свойство управ-

ления клеточным заселением и ремоделированием тканеинженерных конструкций после имплантации.

#### 4. Современные методы изготовления скаффолдов

В последнее десятилетие для потребностей тканевой инженерии и регенеративной медицины было разработано множество различных методов изготовления трехмерных биомиметических скаффолдов, в том числе электроспиннинг, фазовая сепарация, сублимационная сушка и самосборка (рис. 2).

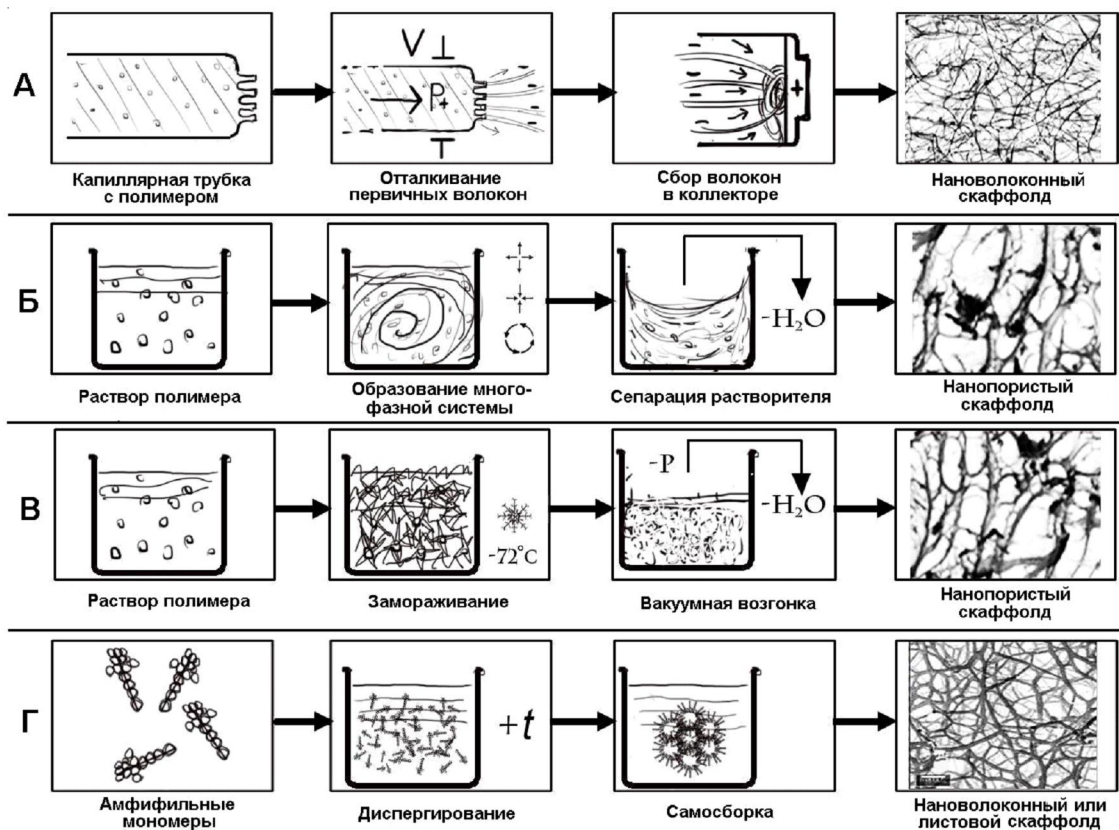


Рис. 2. Основные технологии изготовления нанополимерных скаффолдов:

A – электроспиннинг; B – фазовая сепарация; B – сублимационная сушка; Г – самосборка

Такие скаффолды могут имитировать архитектуру собственного внеклеточного матрикса на наноразмерном уровне, чем обеспечивают первоначальное пространство и условия для регенерации новых тканей [21].

Принцип техники электроспиннинга состоит в том, что под действием высокого на-

пряжения в капиллярных трубках, заполненных вязким раствором полимера, формируются силы отталкивания, инициирующие струи истечения из капилляров. Сохранение сил отталкивания между струями в итоге приводит к образованию тончайших (наноразмерных) нитей полимера, которые собираются в спе-

циальном коллекторе [21; 31]. Толщина нитей может меняться за счет варьирования вязкости, электропроводности и поверхностного натяжения раствора, а также технологических условий (гидростатическое давление в капиллярной трубке, напряженность электрического поля, расстояние между зондом и коллектором). В настоящее время электроспиннинг успешно применен для изготовления нановолоконных скаффолдов из полимолочной, полигликолевых кислот, их сополимеров, поликапролактона, а также из природных полимеров – коллагена, хитозана, фиброина шелка, хитина [5; 31]. Для синтетических полимеров с недостаточной биосовместимостью в состав скаффолдов могут дополнительно включаться белки и факторы роста [35].

**Фазовая сепарация** может быть индуцирована термически или техникой осаждения, и используется для изготовления пористых мембран или вспененных материалов. В создаваемых условиях раствор полимера становится неустойчивым и переходит в многофазную систему, включающую бедные и богатые полимером фазы. Первые удаляются вместе с растворителем, а вторые остаются в виде сложной трехмерной пористой наноструктуры [29].

Методом фазовой сепарации были успешно изготовлены нановолоконные скаффолды из различных синтетических полимеров [3]. По сравнению с электроспиннингом фазовая сепарация обладает лучшим потенциалом для изготовления трехмерных нановолоконных скаффолдов с более равномерной пористой структурой. Однако ограничения в выборе материала и проблемы недостаточного разрешения по-прежнему существенны.

**Сублимационная сушка** была разработана в технологию для преобразования растворимых лабильных материалов в достаточно твердые стабильные структуры, первоначально в пищевой промышленности, фармацевтике и энзимных производствах. Лиофилизация включает в себя три основных этапа: замораживание раствора при достаточно низкой температуре (порядка  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ ); перенос замороженных образцов в камеру, где давление снижается до несколько миллибар. Часть воды удаляется на этом этапе (прямая сублимация), но большая ее часть удаляется при десорб-

ции на третьем этапе окончательной сушки [30]. В последние два десятилетия, метод замораживания-высушивания был с успехом использован для производства трехмерных пористых скаффолдов для тканевой инженерии из синтетических полимеров [12; 28]. Хотя у метода лиффильной сушки существует ряд преимуществ, например использование воды вместо органических растворителей в процессе производства скаффолда, до сих пор не решена проблема создания сложно упорядоченных структур, столь необходимых для изготовления тканеинженерных конструкций с заранее заданными свойствами управления.

**Процесс самосборки**, определяемый как автономная организация компонентов в модели или сложные структуры без вмешательства человека, был успешно использован для изготовления различных нановолокон [32]. Механизмы самосборки основаны на нековалентных и слабых взаимодействиях – электростатических, Ван-дер-ваальсовых, гидрофобных и тому подобных связях. В природе этот механизм типичен для фосфолипидов, которые могут самостоятельно собираться в структуры более высокого порядка – пузырьки, каналы, мицеллы, двуслойные мембраны [22]. Аналогичным образом наноразмерные волокна пептидов могут быть собраны в нановолокна с более высоким соотношением сторон. Это инициируется путем изменения pH и ионной силы раствора. Ряд дизайнерских олигопептидов уже успешно побуждались к самостоятельной сборке в нановолокна. Скаффолды из таких пептидов были способны к повышению адгезии клеток млекопитающих, их пролиферации и дифференцировки. Подобные нановолокна можно оборачивать вокруг клеток, а за счет большой линейной длины они будут действовать, как мостики, соединяющие соседние клетки, и обеспечивать тем самым их механическую поддержку путем создания трехмерных сетей [32]. По-прежнему нерешенным остается вопрос о конструировании таким путем прочным и стабильным трехмерных структур. Инженерно-технические пептиды легко могут быть фрагментированы, так как восприимчивы к эндоцитозу и протеолизу [20]. Кроме того, высокая стоимость синтеза биоматериалов ограничивает их применение

в тканевой инженерии для нужд регенеративной медицины.

### 5. Факторы роста

Гормоны и факторы роста, регулирующие адгезию, агрегацию хондроцитов, их рост и метаболизм, хорошо исследованы с конца 60-х и 70-х годов. Использование факторов роста в тканевой инженерии хряща совпало во времени с развитием скаффолд-технологий и включает два направления: влияние факторов роста на биоматериалы (1) и на фенотипическую экспрессию хондроцитов (2). Так как технологии, применяемые для разных скаффолдов и молекулярных стимуляторов уникальны сами по себе, невозможно представить себе скольнибудь полный перечень методик. Наиболее активно исследованы на сегодня инсулиноподобный фактор роста (IGF-I), основной фактор роста фибробластов (bFGF), фактора роста гепатоцитов (HGF), тромбоцитарный фактор роста (PDGF) и суперсемейство TGF- $\beta$  [11; 24].

Фактор роста IGF-I, как это было показано, позволяет снизить повреждение хряща при потере объема клеточного матрикса. Применение IGF-I сопровождается увеличением продукции коллагена и протеогликанов хондроцитами, но эффективность его резко различается по зонам хряща [4]. Исследования HGF ограничены, и в настоящее время он считается неэффективной в отношении хондрогенеза. PDGF стимулирует хондрогенез, но в итоге обычно формируется не очень прочный фиброхрящ, что делает неэффективной его применение для инженерии суставного хряща [11].

По сравнению с этими факторами роста наиболее впечатляющие результаты были получены при использовании членов суперсемейства TGF- $\beta$ , TGF- $\beta$ 1 и TGF- $\beta$ 3 эффективны для стимуляции хондрогенеза самостоятельно и в сочетании с механическими стимулами [33]. BMP, также входящие в суперсемейство TGF- $\beta$ , не менее эффективны. Увеличение синтеза ЭЦМ и пролиферации клеток было зафиксировано при использовании BMP-2, BMP-4, BMP-7 BMP-12 и BMP-13. Из них BMP-1 и BMP-2 обладали максимальным эффектом [10; 17].

Совместное применение нескольких факторов роста продолжает оставаться плохо изученной областью исследований для тканевой инженерии хрящевой ткани.

### 6. Механическая стимуляция

Известно, что переменное механическое давление в естественных условиях является фактором, регулирующим обновление ЭЦМ хряща, а перичеллюлярная жидкость играет уникальную роль в передаче механических стимулов на клетку [14]. Статические силы приводят к снижению pH и угнетению синтеза компонентов ЭЦМ хондроцитами [11; 36]. Все это позволило обосновать использование переменных гидродинамических нагрузок на хрящ. Аналогично факторам роста, за последние 15 лет были разработаны и оптимизированы условия их применения в тканевой инженерии хряща. Используются частоты от 0,0001 до 3 Гц, градиенты напряжения от 0,1 до 25 %, нагрузки от 0,1 до 24 МПа, продолжительности циклов от нескольких часов до нескольких недель, исследованы волнообразные нагрузки. Многие из этих экспериментов были выполнены первоначально на зрелой ткани хряща (иногда на переживающих тканях), и при изучении на заселенных скаффолдах результаты могли значительно отличаться [23].

В итоге оптимумы стимулирующих воздействий найдены в пределах давления до 7 Мпа, частот около 1 Гц в виде циклических нагрузок продолжительностью в несколько часов ежедневно. Это послужило основанием для того, чтобы пересмотреть величины давления жидкости в биореакторных системах, необходимые для поддержания диффузии, доставки нутриентов и удаления продуктов метаболизма из тканеинженерных конструкций [36]. Сочетание наноматериалов с прямыми механическими нагрузками остается открытой областью тканевой инженерии хряща.

Современные приложения механической стимуляции, как правило, являются компонентами комплексов, основой которых служат различные схемы применения факторов роста. Так, совместное использование BMP-2 и IGF-I увеличивало функциональные свойства тканеинженерных конструкций [11].

Факторы роста были изучены в сочетании со сдвигом, сжатием и нагрузкой гидростатическим давлением. Например в культуре дедифференцированных хондроцитов механический сдвиг в сочетании с BMP-2 сопровождался индукцией экспрессии хондогенных генов и синтезом соответствующих белков [10]. TGF- $\beta$ 3 в сочетании с непосредственной компрессией, как и TGF- $\beta$ 1 с гидростатическими нагрузками повышали построение матрикса до величин в обычной ткани хряща [33].

### **7. Подход «снизу-вверх» в тканевой инженерии**

В настоящее время, формируется перспективный подход «снизу-вверх» (bottom-up), в котором основное внимание уделяется изготовлению микромира тканей скаффолда и формированию строительных блоков с конкретной микроархитектурой, контролем формы и состава отдельных блоков. Монтаж таких блоков в «большую» ткань осуществляется по принципу самосборки, то есть «снизу-вверх». Изготовление тканевых строительных блоков может быть достигнуто при использовании нескольких методик, в том числе с помощью клеточно-инкапсулирующих микромерных гидрогелей (микрогелей), самомонтирующихся клеточных агрегатов, генерации сотовых листов или прямого клеточного принтинга [32]. Исследованы различные методы сборки блоков, в том числе основанные на использовании микроподвижности, акустических и магнитных полей и поверхностного натяжения. Еще одним преимуществом метода является улучшение диффузионных свойств микрогелей из-за их контролируемого объема, за счет чего можно получить высокую плотность клеток после инкапсулирования [21].

### **8. Заключение и перспективы**

Хотя «золотым стандартом» восстановления поврежденного хряща на сегодняшний день остается аутогенная хондропластика, большинство специалистов в области регенеративной медицины понимают, что следующим лидером в данной области уже в ближайшее десятилетие станут тканеинженерные технологии. На сегодняшний день хорошо

очерчен круг источников клеток и материалов для формирования их временного носителя (скаффолда). Ключевая проблема – обеспечение последовательного полного ремоделирования этой конструкции в собственный хрящ – требует предсказуемых управляющих воздействий на процессы заселения, пролиферации, дифференцировки и адекватной фенотипической экспрессии клеток в веществе скаффолда и будущего ЭЦМ хряща. Принципиально выделить три управляющих момента: сама структура скаффолда (1), использование факторов роста (2) и механическая стимуляция (3), которые должны использоваться в комплексе.

Точки развития этого направления сконцентрированы вокруг дальнейшего понимания молекулярной биологии и патофизиологии хряща, использования нанотехнологий при изготовлении скаффолдов с заранее заданными функциями управления, проблемы параллельного управления различными молекулярными регуляторными путями. Одним из перспективных подходов, позволяющих достичь существенного прогресса в этом направлении, может стать полноцикловый подход *de novo* с подключением биоинформационного анализа. Для этого последовательно необходимо создать информационную базу данных на основе метаболомической карты суставного хряща, провести виртуальное моделирование биомиметических хрящу структур на основе наноматериалов, обладающих необходимыми признаками биосовместимости, биodeградируемости и хондроиндукции, отработать технологии изготовления биогибридной матрицы и испытать ее возможности по управляемому постимплантационному ремоделированию в модельных опытах и *in vivo*. В итоге это может привести к созданию новых тканеинженерных решений, позволяющих с успехом преобразовать тканеинженерную конструкцию в функционально полноценный хрящ.

### **СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Bhosale, A. M. Articular cartilage: structure, injuries and review of management / A. M. Bhosale, J. B. Richardson // Br. Med. Bull. – 2008. – Vol. 87. – P. 77–95.



2. Bioinspired nanofibers support chondrogenesis for articular cartilage repair / J. M. Coburn [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2012. – Vol. 109. – P. 10012–10017.
3. Budyanto, L. Fabrication of porous poly (L-lactide) scaffolds for tissue engineering using liquid-liquid phase separation and freeze extraction / L. Budyanto, Y. Q. Goh, C. P. Ooi // *J. Mater. Sci. Mater. Med.* – 2009. – Vol. 20. – P. 105–111.
4. Cartilage repair: past and future-lessons for regenerative medicine / G. J. van Osch [et al.] // *J. Cell Mol. Med.* – 2009. – Vol. 13, № 5. – P. 792–810.
5. Characterization and structure analysis of PLGA/collagen nanofibrous membranes by electrospinning / J. S. Park [et al.] // *J. Appl. Polym. Sci.* – 2012. – Vol. 125. – P. 595–603.
6. Chen, J. P. Bioactive collagen-grafted poly-L-lactic acid nanofibrous membrane for cartilage tissue engineering / J. P. Chen, S. F. Li, Y. P. Chiang // *J. Nanosci. Nanotechnol.* – 2010. – Vol. 10, № 8. – P. 5393–5398.
7. Chitosan scaffolds for osteochondral tissue regeneration / A. Abarrategi [et al.] // *J. Biomed. Mater. Res. A*. – 2010. – Vol. 95, № 4. – P. 1132–1141.
8. Chitosan-polyester-based scaffolds for cartilage tissue engineering: assessment of extracellular matrix formation / A. M. L. da Silva [et al.] // *Acta Biomater.* – 2010. – Vol. 6, № 3. – P. 1149–1157.
9. Clair, B. L. Cartilage repair: current and emerging options in treatment / B. L. Clair, A. R. Johnson, T. Howard // *Foot & Ankle Specialist*. – 2009. – Vol. 2, № 4. – P. 179–188.
10. Combination of baculovirus-expressed BMP-2 and rotating-shaft bioreactor culture synergistically enhances cartilage formation / H. C. Chen [et al.] // *Gene Ther.* – 2008. – Vol. 15, № 4. – P. 309–317.
11. Elder, B. D. Systematic assessment of growth factor treatment on biochemical and biomechanical properties of engineered articular cartilage constructs / B. D. Elder, K. A. Athanasiou // *Osteoarthritis Cartilage*. – 2009. – Vol. 17, № 1. – P. 114–123.
12. Fabrication of porous polysaccharide-based scaffolds using a combined freeze-drying/cross-linking process / A. Autissier [et al.] // *Acta Biomater.* – 2010. – Vol. 6. – P. 3640–3648.
13. Goldring, M. B. Chondrogenesis, chondrocyte differentiation, and articular cartilage metabolism in health and osteoarthritis / M. B. Goldring // *Ther. Adv. Musculoskelet. Dis.* – 2012. – Vol. 4, № 4. – P. 269–285.
14. Hubmacher, D. The biology of the extracellular matrix: novel insights / D. Hubmacher, S. S. Apte // *Curr. Opin. Rheumatol.* – 2013. – Vol. 25, № 1. – P. 65–70.
15. Hyaluronan benzyl ester as a scaffold for tissue engineering / V. Vindigni [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2009. – Vol. 10, № 7. – P. 2972–2985.
16. Induction of cartilage integration by a chondrocyte/collagen-scaffold implant / M. B. Pabbruwe [et al.] // *Biomaterials*. – 2009. – Vol. 30, № 26. – P. 4277–4286.
17. Introduction to tissue engineering and application for cartilage engineering / N. de Isla [et al.] // *Biomed. Mater. Eng.* – 2010. – Vol. 20, № 3. – P. 127–133.
18. Isolation and chondroinduction of a dermis-isolated, aggrecan-sensitive subpopulation with high chondrogenic potential / Y. Deng, J. C. Hu, K. A. Athanasiou // *Arthritis Rheum.* – 2007. – Vol. 56, № 1. – P. 168–176.
19. Koay, E. J. Development of serum-free, chemically defined conditions for human embryonic stem cell-derived fibrochondrogenesis / E. J. Koay, K. A. Athanasiou // *Tissue Eng. Pt A*. – 2009. – Vol. 15, № 8. – P. 2249–2257.
20. Kuo, Y. C. Surface modification with peptide for enhancing chondrocyte adhesion and cartilage regeneration in porous scaffolds / Y. C. Kuo, C. C. Wang // *Colloids Surf. B. Biointerfaces*. – 2011. – Vol. 84, № 1. – P. 63–70.
21. Lu, T. Techniques for fabrication and construction of three-dimensional scaffolds for tissue engineering / T. Lu, Y. Li, T. Chen // *Int. J. Nanomedicine*. – 2013. – Vol. 8. – P. 337–350.
22. Ma, P. X. Biomimetic materials for tissue engineering / P. X. Ma // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2008. – Vol. 60. – P. 184–198.
23. Mauck, R. L. Chondrogenic differentiation and functional maturation of bovine mesenchymal stem cells in long-term agarose culture / R. L. Mauck, X. Yuan, R. S. Tuan // *Osteoarthritis Cartil.* – 2006. – Vol. 14, № 2. – P. 179–189.
24. Mesenchymal stem cell-based therapy for cartilage repair: a review / H. Koga [et al.] // *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.* – 2009. – Vol. 17, № 11. – P. 1289–1297.
25. Modulation of mesenchymal stem cell chondrogenesis in a tunable hyaluronic acid hydrogel microenvironment / W. S. Toh [et al.] // *Biomaterials*. – 2012. – Vol. 33. – P. 3835–3845.
26. Moutos, F. T. Composite scaffolds for cartilage tissue engineering / F. T. Moutos, F. Guilak // *Biorheology*. – 2008. – Vol. 45, № 3/4. – P. 501–512.
27. Muzzarelli, R. A. Biomedical exploitation of chitin and chitosan via mechano-chemical disassembly, electrospinning, dissolution in imidazolium ionic liquids, and supercritical drying / R. A. Muzzarelli // *Mar. Drugs*. – 2011. – Vol. 9, № 9. – P. 1510–1533.
28. Novel gelatin-PHEMA porous scaffolds for tissue engineering applications / D.-M. Dragusinl [et al.] // *Soft Matter*. – 2012. – Vol. 8. – P. 9589–9602.
29. O'Brien, F. J. Biomaterials and scaffolds for tissue engineering / F. J. O'Brien // *Mater. Today*. – 2011. – Vol. 14. – P. 88–95.

30. Pisano, R. Innovation in monitoring food freeze drying / R. Pisano, A. A. Barresi, D. Fissore // *Dry Technol.* – 2011. – Vol. 29. – P. 1920–1931.

31. Preparation and characterization of PLLA /nHA nonwoven mats via laser melt electrospinning / X. Y. Li [et al.] // *Mater. Lett.* – 2012. – Vol. 73. – P. 103–106.

32. Stupp, S. I. Self-assembly and biomaterials / S. I. Stupp // *Nano Lett.* – 2010. – Vol. 10. – P. 4783–4786.

33. The beneficial effect of delayed compressive loading on tissue-engineered cartilage constructs cultured with TGF- $\beta$ 3 / E. G. Lima [et al.] // *Osteoarthritis Cartil.* – 2007. – Vol. 15, № 9. – P. 1025–1033.

34. Updates on stem cells and their applications in regenerative medicine / S. Bajada [et al.] // *J. Tissue Eng. Regen. Med.* – 2008. – Vol. 2, № 4. – P. 69–183.

35. Wimpenny, I. Chondrogenic potential of electrospun nanofibres for cartilage tissue engineering / I. Wimpenny, N. Ashammakhi, Y. Yang // *J. Tissue Eng. Regen. Med.* – 2012. – Vol. 6. – P. 536–549.

36. Zhang, L. The role of tissue engineering in articular cartilage repair and regeneration / L. Zhang, J. Hu, K. A. Athanasiou // *Crit Rev. Biomed. Eng.* – 2009. – Vol. 37, № 1/2. – P. 1–57.

## **THE CONTROL OF THE CELL SETTLEMENT AND SCAFFOLD REMODELING IN CARTILAGE TISSUE ENGINEERING: A REVIEW**

*V.V. Novochadov*

The basic sources of cells, the materials for cartilage tissue engineering, and the main technologies of scaffold fabrication were arranged in this review of current literature. Technologies, based on the production and application of nanoporous and nanofibrous composite materials noted to be most promising for tissue engineering. Three main control impacts of the settlement mechanisms and scaffold remodeling were detailed: the fabrication of scaffold with embedded control functions (1), the application of growth factors and other bioactive molecules (2), as well as the use of mechanical and physical actions (3).

**Key words:** *articular cartilage, tissue engineering, scaffolds, growth factors, nanomaterials.*