

УДК 616-003.93:611.018.41-74:615.275.4
DOI: 10.17802/2306-1278-2017-6-3-64-70

АНАЛИЗ ПЕРФУЗИОННЫХ СВОЙСТВ СКАФФОЛДА

**П. М. ЛАРИОНОВ¹, Н. А. МАСЛОВ², Е. О. ПАПАЕВА², А. С. ЮНОШЕВ⁴,
А. Г. САМОХИН¹, В. П. ТЕРЕЩЕНКО¹, В. В. ПАВЛОВ¹, А. Т. ТИТОВ³**

¹*ФГБУ Новосибирский Научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л.Цивьяна МЗ РФ, Новосибирск, Россия*

²*ФГБУН СОРАН РФ Институт теоретической и прикладной механики им. Христиановича, Новосибирск, Россия*

³*ФГБУН СОРАН РФ, Объединенный институт геологии и минералогии, Новосибирск, Россия*

⁴*ФГБУН СОРАН РФ, Институт гидродинамики им. М.А. Лаврентьева, Новосибирск, Россия*

Реферат. Основная стратегия тканевой инженерии предполагает использование заселяемых клетками скаффолдов с последующим ведением в условиях биореактора. Однако для эффективного использования биореактора необходима адаптация скаффолда уже на этапе его конструирования – в нашем понимании это оценка перфузионных свойств скаффолда.

Цель. Оценить перфузионные свойства полотна скаффолда, полученного из композитного материала поликапролактона 11% w/v с желатинизацией 0,5%, 2% и 4% w/v при различных параметрах электроспиннинга и гидростатическом давлении жидкости 5, 10 и 15 mm Hg.

Материалы и методы. Для получения композитного материала использовали поликапролактон 11% w/v и желатин, растворители 1,1,1,3,3,3-гексафторизопропанол, 2,2,2-трифтороэтанол, хлороформ. Было подготовлено три варианта композита поликапролактона 11% w/v с желатинизацией 0,5%, 2% и 4% w/v. Полотно изготавливалось с использованием установки NF 103 (MECC). Микроскопический анализ был проведен с использованием лазерного конфокального микроскопа «Zeiss LSM 710». Изучение перфузионных свойств полотна электроспиннинга выполняли на оригинальной экспериментальной установке.

Результаты. Показана принципиальная возможность поперечной и продольной перфузии через полотно при гидростатическом давлении 5, 10 и 15 mm Hg. Найдено, что время продольной и поперечной перфузии 1 мл физиологического раствора зависит от степени желатинизации полотна и параметров электроспиннинга (полотно, изготовленное при скорости вращения коллектора в 450 об/мин, демонстрировало значение времени поперечной перфузии практически на один порядок меньше, нежели полотно, изготовленное при скоростях от 90 до 360 об/мин), при одинаковой толщине образцов и одинаковом перфузионном давлении.

Заключение. Полученные в ходе данного исследования результаты позволяют оптимизировать процесс изготовления скаффолда, полученного методом электроспиннинга, для эффективной перфузии и адекватного силового воздействия на адгезированную клеточную культуру в условиях биореактора.

Ключевые слова: скаффолд, электроспиннинг, перфузия.

ANALYSIS OF THE PERFUSION PROPERTIES OF THE SCAFFOLD

**P. M. LARIONOV¹, N. A. MASLOV², E. O. PAPAЕVA², A. S. YUNOSHEV⁴,
A. G. SAMOKHIN¹, V. P. TERESHCHENKO¹, V. V. PAVLOV¹, A. T. TITOV³**

¹*Federal State Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics n.a. Y.L. Tsivyan, ,
Novosibirsk, Russia*

²*Institute of Theoretical and Applied Mechanics n.a. Khristianovich, Siberian Branch of the Russian
Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia*

³*Institute of Geology and Mineralogy, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk,
Russia*

⁴*Lavrentyev Institute of Hydrodynamics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk,
Russia*

Abstract. A scaffold usage for the cell culturing is a widespread tissue engineering approach, including culturing in a bioreactor, however the effective use of a bioreactor requires adaptation of the scaffold at the stage of its design. In our opinion, this means assessment of the perfusion properties of the scaffold.

Aim of the study: Aim of the study was the assessment of the perfusion properties of a scaffold sheet made of 11% w/v polycaprolactone (PCL) composite material with gelatinization of 0.5%, 2%, and 4% w/v and fabricated with different electrospinning parameters and hydrostatic pressure (5, 10, and 15 mm Hg).

Materials and methods: To produce composite material, polycaprolactone, gelatin (type B), and solvents: 1,1,1,3,3,3-hexafluoroisopropanol, 2,2,2-trifluoroethanol and chloroform were used. Three composite variants of 11% w/v PCL with gelatinization of 0.5%, 2%, and 4% w/v were prepared. Perfusion properties of the scaffold sheet were assessed with an original experimental equipment. Structural analysis was carried out using the laser confocal microscopy.

Results: Polymer scaffold sheet fabricated with electrospinning demonstrated the possibility of the transverse and longitudinal perfusion through the sheet under hydrostatic pressure of 5, 10, and 15 mm Hg. Also was found what time of 1 mL saline transverse and longitudinal perfusion through a PCL electrospun sheets depends from gelatinization and electrospinning parameters (transverse perfusion time of the sheet fabricated with the electrospinning collector speed of 450 rpm was 10 times lower than sheets fabricated with speed 90-180 rpm), with equal samples thickness and perfusion pressure.

Conclusion: An obtained results allows to optimize the polymer scaffold fabrication process with electrospinning to achieve the optimal characteristics of the perfusion through the scaffold.

Keywords: scaffold, electrospinning, perfusion

Введение

В настоящее время основной стратегией тканевой инженерии, ориентированной на скаффолд-опосредованные клеточные технологии для формирования кости *ex vivo*, является использование собственных клеток пациента, чаще костномозгового или адипоцитарного происхождения. Скаффолд в целом должен обладать следующими свойствами: адекватной механической прочностью, быть биомиметичным – клеточное микроокружение должно приближаться к физиологическому оптимуму, биodeградируемым – сроки биodeградации материала должны соответствовать срокам репаративной регенерации, обладать оптимальной пористостью, способствующей васкуляризации и биохимическим процессам клеточного питания, биосовместимым и неиммуногенным. Методы производства скаффолда должны быть универсальным, так же скаффолд должен обладать функциональным потенциалом за счет модификации материалов биоактивными молекулами, трехмерная макро-архитектура скаффолда должна быть контролируемой, оптимальной для стерилизации и производства [1-5].

В соответствии с принципами клеточной и тканевой инженерии скаффолды для регенерации кости должны иметь следующие свойства: биосовместимость, остеоиндуктивность, функционализация – включение в состав матрикса биологически активных молекул ростовых факторов, микроэлементов, аптамеров, определяющих образование кости и кровеносных сосудов

при соответствующих прочностных характеристиках. Также широко используются подходы с механостимуляцией, предимплантационной васкуляризацией, включение элементов нано- и микро топографии, улучшающих адгезию клеток, их пролиферацию, дифференцирование в направлениях остео- и ангиогенеза [6-10].

Другой составляющей этой стратегии тканевой инженерии является использование биореактора, что улучшает обменные процессы в культуре клеток, снижает уровень апоптоза клеток и определяет позитивные эффекты механостимуляции на клетки за счет остеогенной дифференцировки [11].

Полотно, полученное методом электроспиннинга, рассматривается в качестве основного кандидата для создания скаффолда кости. К преимуществам этой технологии относят возможность использования композитных материалов, реализующих свои биологические свойства за счет включения в состав биологически активных молекул органического и неорганического происхождения, получения волокна в наноразмерном диапазоне, что определяет усиление адгезии клеток, стимулирует остеоиндукцию, пористость около 80% [12]. В то же время работ по оценке перфузионных свойств скаффолдов на основе полотна электроспиннинга нет.

Цель исследования

Оценить перфузионные свойства полотна скаффолда полученного из композитного мате-

риала поликапролактона 11% с желатинизацией - 0,5%, 2%, 4% при различных параметрах электроспиннинга и гидростатическом давлении жидкости - 5, 10 и 15 mm Hg (миллиметров ртутного столба).

Материалы и методы

Для получения композитного материала использовался поликапролактон (PCL) (80кДа, Sigma-Aldrich), желатин (type B, Sigma-Aldrich), растворители 1,1,1,3,3,3-Гексафлуоро-2-пропанол (HFP) (Sigma-Aldrich), 2,2,2-трифлуороэтанол (Sigma-Aldrich), хлороформ (Реахим, ХЧ). Было подготовлено три варианта композита на основе 11 w/v % PCL желатинизацией (Gel) 0,5%, 2% и 4% w/v. Определены углы смачивания – 61,4°, 39,2° и 38,9° для 0,5%, 2% и 4% w/v композитов соответственно.

Формирование полотна дренажа выполняли на установке электроспиннинга NF-103 (МЕСС, Япония), на базе «Инновационный медико-технологический центр» (ЗАО «ИМТЦ»). Для получения полотна постоянными параметрами электроспиннинга были следующие: высота 22 см,

ускоряющее напряжение – 21 кВт, диаметр коллектора 8 мм, скорость подачи раствора полимера - 1 мл в час, затрачиваемый для получения объем полимера был равен 1,4 мл. Изменяемыми параметрами были: скорость вращения коллектора: 90, 180, 360, 450, 540 оборотов в минуту, перпендикулярная скорость подающей иглы – 0, 90, 270 мм в секунду. В конечном итоге для каждого композита методом электроспиннинга было получено по 15 вариантов дренажирующего полотна, всего 45 образцов. Линейные размеры образцов составили 9-2,4 см, толщина всех образцов была 75±6,5 мкм.

Микроскопию полотна электроспиннинга осуществляли с помощью лазерного конфокального микроскопа «Zeiss LSM 710» («Карл Цейсс МикроИмэйджинг ГмбХ», Германия) с принадлежностями: объективы Arochromat x20 сухой и x40 с масляной иммерсией. Одновременно снималось два канала: первый канал – аутофлуоресценция волокон полотна электроспиннинга, второй канал – детектор проходящего света, который необходим для определения точной локализации эмиссионного сигнала каждого волокна внутри конфокального объема полотна полученного методом электроспиннинга.

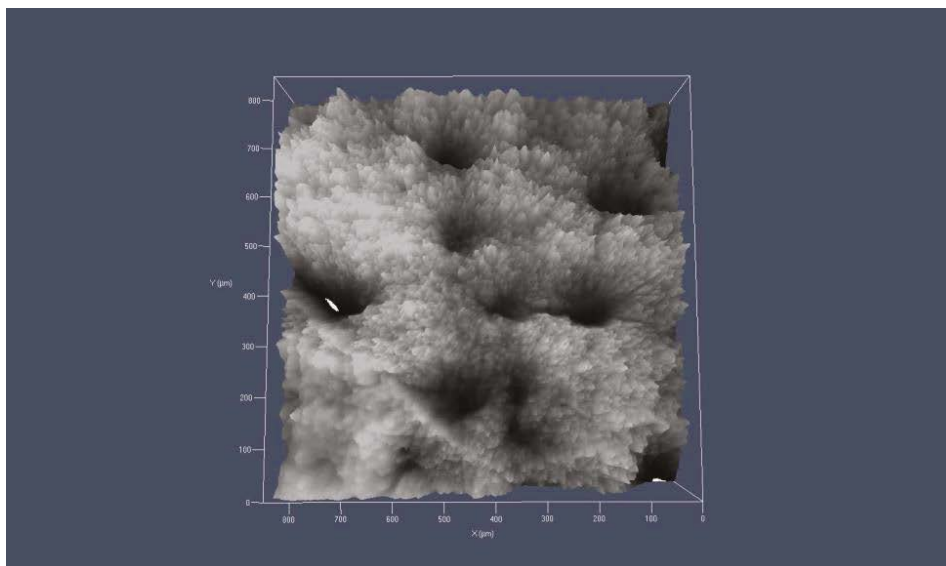


Рисунок 1. Полотно, полученное методом электроспиннинга из композита с желатинизацией, – 2% w/v. (Объектив x40, масляная иммерсия. Трехмерная модель)

Для анализа изображения объема полотна выполняют трехмерное моделирование. Анализ количества и размеров волокон в конфокальном объеме осуществляли с использованием полупроводникового лазера микроскопа «Zeiss LSM 710» с длиной волны 405 нм для возбуждения флуоресценции соответствующего программ-

ного модуля обеспечения Zeiss ZEN 2011 Image analysis («Карл Цейсс МикроИмэйджинг ГмбХ», Германия) (рис. 1).

В каждом анализируемом образце выполнялась оценка «пористости» трехмерных изображений и диаметра волокон с использованием метода проекции максимальной интенсивности.

Проведен анализ 10 трехмерных изображений на образце, что эквивалентно 1000 ручных измерений волокон в одном образце.

Изучение перфузионных свойств полотна скаффолда выполняли с использованием экспериментальной установки, представленной на рис.2. Образец полотна помещали между двумя кольцами из поликарбоната. Диаметр отверстия в кольцах 10 мм. В кольцах со стороны образца сделаны кольцевые пазы глубиной 2 мм и диаметром 12/14 мм. В нижнем кольце сделаны радиальные канавки от паза наружу. Поликарбонатные кольца клеивали в дюралевые детали, к верхней из которых прикреплялась стеклянная трубка, а к нижней – фиксирующий клапан. При определении продольной перфузии клапан закрывали, образец

сжимали между кольцами с усилием 5N, в этом положении сборка фиксировалась гайками. После этого в стеклянную трубку заливали физиологический раствор в количестве, необходимом для создания нужного давления жидкости на образец. С помощью секундомера засекали время, за которое вытек из трубки один миллилитр физиологического раствора. Движение физиологического раствора при этом следующее: из стеклянной трубки через внутренний объем дюралевой детали раствор перфузировал полотно скаффолда и двигался в зазоре между поликарбонатными кольцами наружу до кольцевых пазов, где выступал из образца и далее двигался по радиальным пазам наружу. За время измерения давление уменьшалось не более, чем на 10%.

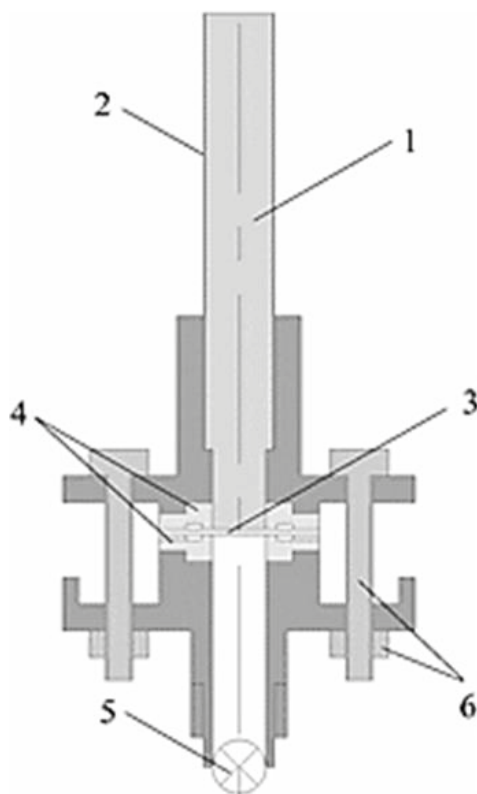


Рисунок 2. Схема устройства для оценки перфузионных свойств полотна электроспиннинга: 1 – физиологический раствор, 2 – стеклянная трубка, 3 – испытываемый образец, 4 – поликарбонатные кольца, 5 – открывающийся клапан, 6 – фиксирующая конструкция болт и гайка

Поперечная перфузия определялась в той же постановке, только гайки затягивались для предотвращения утечки раствора вдоль ткани. Движение раствора при этом следующее: из стеклянной трубки раствор перфузировал полотно скаффолда и двигался через открытый клапан наружу. За время измерения давление уменьшалось не более, чем на 10%.

Обработку полученных результатов исследо-

вания проводили с использованием вычисления описательных статистик и путем сравнения количественных параметров с использованием программного обеспечения «ORIGIN PRO 2015». Описательные статистики представлены в виде средней (M) и её стандартной ошибки (m). Статистическую значимость различий между сравниваемыми средними величинами исследуемых параметров оценивали с помощью параметри-

ческого двунаправленного t-критерия. Уровень (P) пороговой статистической значимости при этом принимали равным 0,05. Различия сравниваемых величин считали достоверными при значениях, не превышающих порогового уровня, определенного в 0,05 ($P < 0,05$). Анализ степени сопряженности процессов, с учетом небольших выборок и большой дисперсии, проводили с использованием непараметрического коэффициента корреляции Спирмена – (r).

Результаты и обсуждение

Структурная характеристика полотна электроспиннинга для трех композитов PCL с 0,5%

2% и 4% желатинизацией была следующей: средние размеры волокон при использовании композита PCL с 0,5% w/v желатинизацией - $498 \pm 0,05$ nm; 2% w/v - $418 \pm 0,04$ nm; 4% w/v - $460 \pm 0,04$ nm. Плотность «упаковки» волокна в полотне, выполненном из композита с PCL желатинизацией – 0,5%, 2% и 4% w/v в процентах от всего объема полотна в % ($M \pm m$), составила - $7,9 \pm 0,28\%$, $9,7 \pm 0,09\%$ и $9,7 \pm 0,09\%$, что соответствовало пористости, - 92,1%, 90,3% и 90,3% (таблица 1).

Средние значения времени продольной перфузии через полотно скаффолда при давлении 15 mm Hg без учета параметров электроспиннинга в секундах представлены в таблице 1.

Таблица 1.

Время продольной перфузии 1 миллилитра физиологического раствора в секундах через полотно скаффолда при давлении 15 mm Hg

PCL с желатинизацией (% w/v)	Количество наблюдений n	Время перфузии 1 мл в секундах при давлении 15 mm Hg ($M \pm m$)
0,5%	15	$1360,9 \pm 12,2$
2%	15	$975,7 \pm 9,72^*$
4%	15	$804,7 \pm 4,01^*$

Примечание: * - $P < 0,05$, при сравнении с временем перфузии образцов из PCL с 0,5% w/v желатинизацией

Незначительное, но статистически значимое уменьшение плотности упаковки волокон в образцах PCL с желатинизацией 0,5% w/v не приводило к уменьшению времени перфузии в образцах, в то же время желатинизация капролактона 2% и 4% w/v значимо определяла сокращение времени продольной перфузии. Также был проведен анализ влияния параметров электроспиннинга на время продольной фильтрации в ходе которого была выявлена средне-слабая отрицательная связь между

скоростью вращения коллектора и временем продольной перфузии ($r = -0,3270$, $P < 0,05$), т.е. можно говорить о том, что с увеличением скорости вращения коллектора уменьшалось время продольной перфузии. Значения времени поперечной перфузии 1 мл физиологического раствора через полотно скаффолда PCL с желатинизацией 0,5%, 2% и 4% w/v без учета параметров электроспиннинга в секундах, при величинах давления в 5, 10 и 15 mm Hg представлены в таблице 2.

Таблица 2.

Время поперечной перфузии в секундах 1 миллилитра физиологического раствора через полотно скаффолда при давлении 5, 10 и 15 mm Hg

PCL с желатинизацией композита (w/v %)	Количество наблюдений	Время перфузии 1 мл в секундах ($M \pm m$) при давлении 5 mm Hg	Время перфузии 1 мл в секундах ($M \pm m$) при давлении 10 mm Hg	Время перфузии 1 мл в секундах ($M \pm m$) при давлении 15 mm Hg
0,5%	15	$1462 \pm 13,7$	$1675 \pm 14,9$	$1989 \pm 15,8$
2%	15	$457,3 \pm 8,8^*$	$240 \pm 6,2^*$	$103 \pm 3,7^*$
4%	15	$892,2 \pm 12,8^*$	$1396 \pm 16,9^*$	$477 \pm 9,16^*$

Примечание: * - $P < 0,05$, при сравнении с временем перфузии образцов PCL с 0,5% W/V желатинизацией

Сравнивая значения времени поперечной перфузии раствора между образцами, следует отметить уменьшение времени перфузии в образцах, изготовленных из композитов PCL с желатинизацией 2% и 4% w/v. Однако оказалось неожиданным, что линейный характер уменьшения времени перфузии наблюдался только в образцах, изготовленных из композита PCL с желатинизацией 2% w/v, где с увеличением гидростатического давления уменьшалось время перфузии.

Влияние параметров электроспиннинга при получении полотна на время продольной перфузии раствора без учета состава композитного материала, представлено в таблице 3. Наиболее

подходящим оказался режим со скоростью вращения коллектора 450 оборотов в минуту, где значение времени поперечной перфузии было меньше практически на один порядок, нежели при скоростях в 90-180 об/мин. Помимо этого, была найдена слабая отрицательная связь поперечной скорости подающей иглы и времени поперечной перфузии, т.е. можно предполагать, что увеличение поперечной скорости подающей иглы сокращает время перфузии ($r = -0,189952$, $P < 0,05$). Однако для подтверждения этого требуется увеличить выборку наблюдений, чтобы однозначно показать тесную связь анализируемых процессов, уменьшение времени перфузии при увеличении скорости подающей иглы.

Таблица 3.

Время поперечной перфузии через полотно электроспиннинга (скаффолда) в секундах без учета состава композита, полученного при различных скоростях коллектора

Скорость вращения коллектора (оборотов в/ минуту)	Количество наблюдений, n	Время перфузии 1 мл в секундах ($M \pm m$) при давлении 15 mm Hg без учета состава композита.
90	9	879 \pm 13,8
180	9	1234 \pm 13,8*
360	9	364 \pm 9*
450	9	98 \pm 4,6*
540	9	767 \pm 15,4*

Примечание: * - $P < 0,05$, при сравнении с полотном, изготовленным при скорости вращения коллектора 90 оборотов в минуту

Заключение

Наше исследование проведено в интересах главной стратегии тканевой инженерии сегодняшнего дня – формирования ткани de novo в условиях биореактора. Нами показана возможность продольной перфузии скаффолда при давлении 15 mm Hg и поперечной перфузии при давлениях 5, 10, 15 mm Hg. Найдено значимое влияние на перфузионные свойства скаффолда степени желатинизации поликапролактонового композита и параметров электроспиннинга при получении полотна. Так, полотно, изготовленное при скорости вращения коллектора в 450 об/мин, демонстрировало значение времени поперечной перфузии практически на один порядок меньше, нежели полотно, изготовленное при скоростях в 90-180 об/мин. В то же время, такой показатель как «пористость», определенный нами через расчеты плотности «упаковки» волокна, в нашем

исследовании не оказал решающего влияния на перфузионные свойства. Более того, пористость была большей в образцах поликапролактона с желатинизацией 0,5%, показавших большее время перфузии 1 мл физиологического раствора при сопоставлении с образцами, имевшими желатинизацию 2% и 4% w/v. Полученные в ходе данного исследования результаты позволяют оптимизировать процесс изготовления полимерного тканевого полотна методом электроспиннинга, чтобы достигнуть оптимальных характеристик перфузии через полотно при ведении скаффолда в условия биореактора.

Благодарность

Это исследование было поддержано Российским фондом фундаментальных исследований (Грант No. 15-29-04849).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Антонова Л.В., Матвеева В.Г., Барбараш Л.С. Использование метода электроспиннинга в создании биodeградируемых сосудистых графтов малого диаметра: проблемы и решения (Обзор). Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2015; 3: 12-22. DOI: <http://dx.doi.org/10.17802/2306-1278-2015-3-12-22>

Antonova L. V., Matveeva V. G., Barbarash L. S. Electrospinning and biodegradable small-diameter vascular grafts: problems and solutions (Review). Complex Issues of Cardiovascular Diseases. 2015; 3: 12-22. DOI: <http://dx.doi.org/10.17802/2306-1278-2015-3-12-22> [In Russ].

2. Nasonova M. V., Glushkova V. T., Borisov V. V., Velikanova E. A., Burago A. Yu., Kudryavtseva Yu. A. Biocompatibility and Structural Features of Biodegradable Polymer Scaffolds. Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2015; 160 (1): 134–140. DOI: [10.1007/s10517-015-3114-3](https://doi.org/10.1007/s10517-015-3114-3)

3. Ingavle G.C., Leach J.K. Advancements in electrospinning of polymeric nanofibrous scaffolds for tissue engineering. Tissue Eng Part B Rev. 2014; 20 (4): 277-293. doi: [10.1089/ten.TEB.2013.0276](https://doi.org/10.1089/ten.TEB.2013.0276)

4. Holzwarth J.M., Ma P.X. Biomimetic nanofibrous scaffolds for bone tissue engineering. Biomaterials. 2011; 36 (32): P.9622-9629. doi: [10.1016/j.biomaterials.2011.09.009](https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.09.009)

5. Al-Himdani S., Jessop Z.M., Al-Sabah A., Combella E., Ibrahim A., Doak S.H. et al. Tissue-Engineered Solutions in Plastic and Reconstructive Surgery: Principles and Practice Front Surg. 2017; 4: 4. Published online 2017 Feb 23. <https://doi.org/10.3389/fsurg.2017.00004>

6. Ami R. Amini, Cato T. Laurencin and Syam P. Nukavarapu Bone Tissue Engineering: Recent Advances and Challenges. Crit Rev Biomed Eng. 2012; 40(5): 363–408.

7. Chen Z., Bachhuka A., Han S., Wei F., Lu S., Visalakshan R.M. et al. A Tuning Chemistry

and Topography of Nanoengineered Surfaces to Manipulate Immune Response for Bone Regeneration Applications. ACS Nano. 2017 May 23;11(5):4494-4506. doi: [10.1021/acsnano.6b07808](https://doi.org/10.1021/acsnano.6b07808).

8. Hu X., Wang Y., Tan Y., Wang J., Liu H., Wang Y. et al. A Difunctional Regeneration Scaffold for Knee Repair based on Aptamer-Directed Cell Recruitment. Adv Mater. 2017 Apr; 29(15). doi: [10.1002/adma.201605235](https://doi.org/10.1002/adma.201605235). Epub 2017 Feb 10.

9. Садовой М.А., Ларионов П.М., Самохин А.Г., Рожнова О.М. Клеточные матрицы (скаффолды) для целей регенерации кости: современное состояние проблемы. Хирургия позвоночника. 2014; (2): 79–86

Sadovoy M.A., Larionov P.M., Samokhin A.G., Rozhnova O.M. Cellular matrices (scaffolds) for bone regeneration: state of the art. Hir. Pozvonoc. 2014; (2): 79-86. [In Russ].

10. Ларионов П.М., Садовой М.А., Самохин А.Г., Рожнова О.М., Гусев А.Ф., Принц В.Я. и др. Создание тканеинженерного эквивалента костной ткани и перспективы его использования в травматологии и ортопедии. Хирургия позвоночника. 2014; (3): 77–85. doi: [10.14531/ss2014.3.77-85](https://doi.org/10.14531/ss2014.3.77-85).

Larionov P.M., Sadovoy M.A., Samokhin A.G., Rozhnova, Gusev A.F., Prinz V.Y. et al. Creation of tissue-engineered living bone equivalent and prospects for its application in traumatology and orthopaedics. Hir. Pozvonoc. 2014; (3):77-85. doi: [10.14531/ss2014.3.77-85](https://doi.org/10.14531/ss2014.3.77-85) [In Russ]

11. Egger D., Spitz S., Fischer M., Handschuh S., Glösmann M., Friemert B. et al. Application of a Parallelizable Perfusion Bioreactor for Physiologic 3D Cell Culture. Cells Tissues Organs. 2017; 203 (5): 316-326. doi: [10.1159/000457792](https://doi.org/10.1159/000457792).

12. Prabhakaran M.P. Venugopal J., Ramakrishna S. Electrospun nanostructured scaffolds for bone tissue engineering. Acta Biomaterialia. 2009; 5 (8): 2884–2893. doi.org/10.1016/j.actbio.2009.05.007.

Статья поступила 08.06.2017.

Для корреспонденции:

Ларионов Пётр Михайлович

Адрес: 630091, г. Новосибирск, ул. Фрунзе, 17,
Тел. +7(913) 398-69-83,
E-mail: ptrl@mail.ru

For correspondence:

Larionov Peter

Address: 17, Frunze st., Novosibirsk,
630091, Russian Federation
Тел. +7(913) 398-69-83,
E-mail: ptrl@mail.ru