

DOI: 10.15825/1995-1191-2019-4-88-95

ИНТЕРЛЕЙКИН IL-1 β СТИМУЛИРУЕТ РЕВИТАЛИЗАЦИЮ ХРЯЩЕВОГО МАТРИКСА НАЗАЛЬНЫМИ ХОНДРОЦИТАМИ ЧЕЛОВЕКА *IN VITRO*

Д.С. Барановский¹, А.В. Люндун², М.В. Балясин², И.Д. Клабуков², О.А. Красильникова², М.Е. Крашенинников², В.Д. Паршин²

¹ Университетский госпиталь Базеля, Базель, Швейцария

² ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Российская Федерация

Ревитализация децеллюляризованных или девитализированных матриксов для тканевой инженерии трахеи, как правило, предполагает заселение матрикса-носителя на основе донорской хрящевой ткани аутологичными клетками реципиента или аллогенными клетками в условиях длительного культивирования. **Цель работы** – изучить эффективность колонизации девитализированных матриксов на основе естественной хрящевой ткани трахеи человека назальными хондроцитами человека при добавлении к питательной среде провоспалительного цитокина Интерлейкин-1-бета (IL-1 β). **Материалы и методы.** Матрикс-носители для тканевой инженерии трахеи получали на основе естественной хрящевой ткани трахеи человека методом девитализации и лазерного травления. Ревитализацию матриксов проводили путем заселения назальных хондроцитов человека. Гистологическое исследование проводили после окрашивания гематоксилином и сафранином-О с дальнейшей микроскопией на световом микроскопе Nikon Eclipse L200. Рентгеновская микротомография выполнялась на аппарате Phoenix nanotom m. Электронная микроскопия проводилась на установке Nova NanoSEM 230. **Результаты.** Выявлено статистически значимое увеличение интенсивности колонизации назальными хондроцитами ($p = 0,0008$) и стимулирование их миграционной активности ($p < 0,0001$) в присутствии IL-1 β по сравнению с контрольными группами. **Выводы.** Добавление провоспалительного цитокина IL-1 β в концентрации 1 мкг/мл к питательной среде способствует объемному заселению девитализированного хрящевого матрикса назальными хондроцитами человека, позволяя создавать высокоревитализированные материалы для тканевой инженерии трахеи.

Ключевые слова: витализация, воспаление, интерлейкин-1-бета (ИЛ-1 β), клетки, лазерное травление, ревитализация, тканевая инженерия, физиологическая совместимость, хондроциты, хрящевой матрикс.

INTERLEUKIN IL-1 β STIMULATES CARTILAGE SCAFFOLD REVITALIZATION *IN VITRO* WITH HUMAN NASAL CHONDROCYTES

D.S. Baranovskii¹, A.V. Lyundun², M.V. Balyasin², I.D. Klabukov², O.A. Krasilnikova², M.E. Krashennnikov², V.D. Parshin²

¹ University Hospital Basel, Basel, Switzerland

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (Sechenovsky University), Moscow, Russian Federation

Revitalization of decellularized or devitalized scaffolds for trachea tissue engineering normally involves a seeding of autologous cells of recipient or allogeneic cells on the scaffold. **Aim:** aimed to investigate the capability of human nasal chondrocytes for colonization of devitalized scaffolds, based on the native human tracheal cartilage, with the proinflammatory stimulation by adding of Interleukin-1-beta (IL-1 β) to the culture medium. **Materials and methods.** Scaffolds for trachea tissue-engineering were generated from native human tracheal cartilage by

Для корреспонденции: Барановский Денис Станиславович. Адрес: 4031 Швейцария, Базель, Спиталштрассе, д. 21. Тел. +41 77 997 0292. E-mail: denis.baranovskii@usb.ch

For correspondence: Baranovskii Denis Stanislavovich. Address: Spitalstrasse 21, 4031 Basel, Switzerland. Тел. +41 77 997 0292. E-mail: denis.baranovskii@usb.ch

devitalization and laser-engraving. For the purpose of scaffold-revitalization a cell-seeding with human nasal chondrocytes was performed. Following histological examination was done with Hematoxylin & Safranin-O stainings and light microscopy. X-ray microtomography and scanning electron microscopy were performed additionally. **Results.** Statistically significant increase in the colonization rate ($p = 0.0008$) with nasal chondrocytes and stimulation of their migration activity ($p < 0.0001$) in the presence of IL-1 β compared to the control group were confirmed. **Conclusion.** Presence of the inflammatory cytokine IL-1 β (1 $\mu\text{g/ml}$) in the culture medium enhances volume seeding of devitalized cartilage scaffold with human nasal chondrocytes, allowing to create high-revitalized materials for trachea tissue engineering.

Key words: vitalization, inflammation, Interleukin-1-beta (IL-1 β), cultured cells, laser etching, revitalization, tissue engineering, physiological relevance, chondrocytes, cartilage scaffold.

ВВЕДЕНИЕ

Получение тканеинженерных конструкций предполагает ревитализацию децеллюляризированных матриц-носителей перед имплантацией посредством заселения прекультивированными клетками [1, 2]. Имобилизация аутологичных клеток реципиента на матрикс дополнительно снижает его иммуногенность и повышает биосовместимость.

Существуют различные способы стимулирования миграции клеток в объем матрикса-носителя, среди которых использование хемоаттрактантов и молекул клеточной адгезии в различных концентрациях и градиентах, а также динамическое культивирование в условиях биореакторов [3, 4]. При этом реакции организма в ответ на имплантацию будут оказывать влияние на жизнеспособность и дифференцировку клеток, необходимую для созревания физиологически совместимой хрящевой ткани [5].

Асептическая воспалительная реакция, известная как хирургическое воспаление, сопутствует любому хирургическому вмешательству [6], а сама область имплантации готовых тканеинженерных конструкций, как правило, представлена воспаленными тканями пораженного органа реципиента. При этом влияние факторов и продуктов воспалительной реакции на поведение заселенных клеток после имплантации такой конструкции сложно предсказуемо и остается малоизученной областью, что делает перспективным исследование влияния провоспалительных цитокинов на процесс колонизации матриц *in vitro*.

Для моделирования воспаления в условиях *in vitro* может применяться добавление в среду различных провоспалительных факторов, таких как интерлейкины, факторы некроза опухоли и интерфероны. Известно, что Интерлейкин-1-бета (IL-1 β) подавляет пролиферацию суставных хондроцитов кролика [7]. Также IL-1 β участвует в клеточной регуляции хондроцитов, стимулируя пролиферацию и подавляя дифференцировку [8]. Показано влияние IL-1 β на хондрогенез ММСК КМ [9], регуляцию компонентов цитоскелета хондроцитов [10] и защитные физиологические реакции хондроцитов при механическом стимулировании в присутствии IL-1 β [11], что пред-

полагало наличие у IL-1 β эффектов, способствующих колонизации матрикса хондроцитами [12].

В настоящее время установлено, что естественная концентрация IL-1 β в физиологических жидкостях человека составляет до 200–300 нг/мл [13], а при воспалительных процессах вследствие имплантации экзогенных материалов ее значение в межтканевой жидкости увеличивается до 750 нг/мл и более в зависимости от места имплантации и индивидуальных особенностей реципиента [13, 14]. Поэтому в качестве модельной среды было принято решение использовать раствор IL-1 β в концентрации 1 мкг/мл, принятой физиологически релевантной активному воспалительному процессу в месте имплантации.

Целью исследования являлось изучение эффективности колонизации девитализированных матриц назальными хондроцитами при добавлении IL-1 β в физиологически релевантной воспалению концентрации к питательной среде при ревитализации матрикса в статической культуре *in vitro*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Соблюдение этических требований

Забор материала донорских тканей производился в соответствии с протоколом научного исследования, одобренного комитетом по этике Сеченовского университета (решение № 07-15 от 15.07.2015 г.).

Получение матрикса трахеи на основе естественной хрящевой ткани человека

В качестве матрикса использовалась нативная хрящевая ткань человека, подвергнутая девитализации с использованием трех циклов замораживания–оттаивания и лазерного травления с формированием слепых лунок диаметром 150–200 мкм и глубиной до 300 мкм. Лазерное травление образцов материала размерами 2 × 4 мм и толщиной 1 мм использовалось для обеспечения объемной колонизации.

С целью девитализации нативной ткани трахею кадаверного донора в условиях ламинарного шкафа отделяли от окружающих тканей, помещали в стерильный раствор PBS комнатной температуры и

замораживали в течение 15 минут в жидком азоте. После заморозки образец размораживали в водяной бане при 37,5 °С в течение 30 минут. Раствор PBS после цикла удаляли, 3 раза промывали стерильным раствором и снова помещали в пробирку с PBS. Затем циклы замораживания–оттаивания повторялись еще 2 раза, после чего девитализированные хрящи отделялись от перихондриума и нарезались пластинками толщиной не более 1 мм.

Далее выполняли лазерное травление хрящевых тканей на CO₂-лазере BD-01 с длиной волны 10,6 мкм. Результатом лазерного травления стало образование слепых лунок диаметром 150–200 мкм, глубиной до 300 мкм и плотностью около 4 лунок на 1 мм². Полученные образцы 3 раза промывали холодным стерильным раствором PBS и отправляли на стерилизацию гамма-излучением изотопами иридия-192 с поглощенной дозой 1,3 кГр.

Выделение и культивирование хондроцитов для ревитализации матрикса

В качестве источника хондроцитов для получения первичной культуры использовалась хрящевая часть перегородки носа человека. Полученный образец хряща назосептальной перегородки проверяли на бактериальную и грибковую контаминацию, и затем подвергали ферментации раствором Collagenase Type II 0,15% в течение 12 часов при температуре 37 °С с 5% CO₂. После этого ферментированный хрящ фильтровали с помощью стерильного ситечка с размером пор 100 мкм и центрифугировали фильтрат в течение 4 минут при 1300 об/мин. Подсчитывали клетки в полученной суспензии хондроцитов, помещали в культуральную посуду и культивировали в течение 21 дня до получения первого пассажа при 37 °С 5% CO₂ в среде DMEM (Gibco, США) с добавлением 5% FBS, TGF и FGF-2, меняя среду каждый третий день. Далее назальные хондроциты первого пассажа криоконсервировали и сохраняли в криобанке при температуре –196 °С.

Ревитализация матриксов назальными хондроцитами человека

Для ревитализации матриксов использовали назальные хондроциты человека второго пассажа, культивированные из предварительно криоконсервированных клеток первого пассажа. Экспансия клеток выполнялась в среде DMEM с высоким содержанием глюкозы (4,5 г/л) и добавлением 5% FBS, TGF и FGF-2 при 37 °С 5% CO₂, с заменой среды каждый третий день.

Матрикса, подлежащие ревитализации (n = 6), выкладывали на полупроницаемые мембраны планшетов Transwell (Corning, США) и заселяли клетками из расчета 0,25 млн назальных хондроцитов на 1 мм² поверхности матрикса. Все ревитализированные таким образом образцы культивировали в условиях инкубатора при 37 °С и 5% CO₂. В качестве питательной среды использовалась полная среда DMEM с высоким содержанием глюкозы (4,5 г/л) и добавлением 5% FBS, инсулина и аскорбиновой кислоты.

По истечении первых суток культивирования все образцы разделяли на контрольную (n = 3) и экспериментальную (n = 3) группы. Условия культивирования образцов контрольной группы оставались неизменными до конца эксперимента. Для образцов экспериментальной группы было применено добавление провоспалительного цитокина человеческого рекомбинантного интерлейкина IL-1β (Sigma, арт. SRP3083) в концентрации 1 мкг/мл к питательной среде. Все образцы извлекали для гистологического исследования по истечении последующих 6 суток культивирования.

Гистологические исследования и рентгеновская микротомография

Гистологическое исследование выполняли после консервации всех образцов в растворе формальдегида 4% в течение 24 часов, дегидратации восходящими концентрациями этанола и проведения парафинизации с использованием стандартного протокола. Срезы толщиной 5 мкм последовательно окрашивали гематоксилином и сафранином-О для визуализации состояния межклеточного вещества и заселенных клеток. Сафранин-О окрашивает гликозаминогликаны хрящевой ткани в красно-оранжевые тона, позволяя качественно оценить насыщенность ими хрящевой ткани по интенсивности окраски [15].

Для сравнительной качественной и количественной оценки ревитализации матрикса нами была разработана оригинальная четырехбалльная шкала (табл.), основанная на принципах Бернской шкалы (Bern score) для оценки пеллет-культур хрящевых клеток [16].

Используя оригинальную шкалу для независимой оценки трех областей на каждый образец, оценивали степень колонизации лунок и степень деструкции микроархитектоники матрикса при миграции клеток в толщу матрикса за пределы лунок.

Гистологические исследования выполняли на базе Института хирургических исследований Университетского госпиталя Базеля с использованием микротомов (Thermo Fisher Scientific, США), светового микроскопа Nikon Eclipse L200 (Nikon, Япония).

**Оригинальная четырехбалльная шкала для количественной оценки
ревитализации матриксов**

**The original four-point scale for quantitative evaluation
of scaffold revitalization**

Категория	Оценка
А. Колонизация лунок	
Полное отсутствие клеток или единичные клетки	0
Пристеночная колонизация	1
Многослойная колонизация с сохранением свободного пространства в лунках	2
Тотальная колонизация (нет видимого пространства в лунках)	3
Б. Миграция клеток	
Форма и границы поры отчетливо прослеживаются с сохранением расстояния между лунками	0
Единичные локальные слияния лунок	1
Множественные слияния лунок	2
Полное слияние лунок (границы отдельных лунок не прослеживаются)	3

Поверхностную колонизацию образцов назальными хондроцитами оценивали с помощью сканирующей электронной микроскопии с напылением золота на аппарате Nova NanoSEM 230 (FEI, США).

Рентгеновские микротомографии тканеинженерных конструкций для оценки сохранности лунок в трехмерной структуре образца после ревитализации получали на аппарате Phoenix nanotom m (General Electric, США).

Статистическая обработка данных

Статистическую обработку данных проводили, используя ранговый U-критерий Манна–Уитни при помощи компьютерной программы GraphPad Prism 7 (GraphPad Software, Inc). Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Сканирующая электронная микроскопия образцов хрящевой ткани трахеи после выполнения лазерного травления и ревитализации позволила визуализировать плотное покрытие поверхности образцов клетками назальных хондроцитов, а также рыхлое межклеточное вещество, синтезированное *de novo* (рис. 1).

Микрокомпьютерная томография матриксов-носителей после ревитализации позволила идентифицировать расположение и подтвердить сохранность лунок в структуре образцов контрольной группы, однако разрешающая способность микротомографа оказалась недостаточной для визуализации клеток. Наиболее информативным было признано гистологическое исследование, обнаружившее высокую степень колонизации лунок. Сопоставление результатов гистологического исследования и микрокомпьютер-

ной томографии для образцов контрольной группы приведено на рис. 2.

Показано, что воздействие IL-1 β в ходе ревитализации приводило к более плотной и интенсивной колонизации лунок. Вместе с тем миграция клеток за пределы лунок вглубь матрикса приводила к выраженному слиянию лунок и каналов и в конечном счете к разрушению микроархитектоники тканеинженерной конструкции (рис. 3).

Результаты количественной оценки интенсивности колонизации матрикса и миграции клеток за пределы лунок по оригинальной четырехбалльной шкале для структурированных образцов экспериментальной (при воздействии IL-1 β) и контрольной группы после заселения назальными хондроцитами приведены на рис. 4.

Показаны статистически значимые различия интенсивности колонизации назальными хондроцитами ($p = 0,0008$) и их миграции за пределы лунок ($p < 0,0001$) в присутствии IL-1 β по сравнению с контрольными группами.

ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее наши экспериментальные исследования показали, что повышение плотности заселения до 0,5 млн клеток на 1 мм² не приводит к увеличению плотности колонизации лунок, но увеличивает количество клеток, остающихся на поверхности образца. Вместе с тем более низкая плотность заселения не позволяет колонизировать все имеющиеся лунки в отведенный промежуток времени (до 7 суток). Кроме того, использование динамического культивирования в условиях биореактора не всегда позволяет добиться объемного заселения материала *in vitro*.

Нами показано, что появление провоспалительного цитокина в культуральной среде позволяет повысить плотность ревитализации матрикса-носителя,

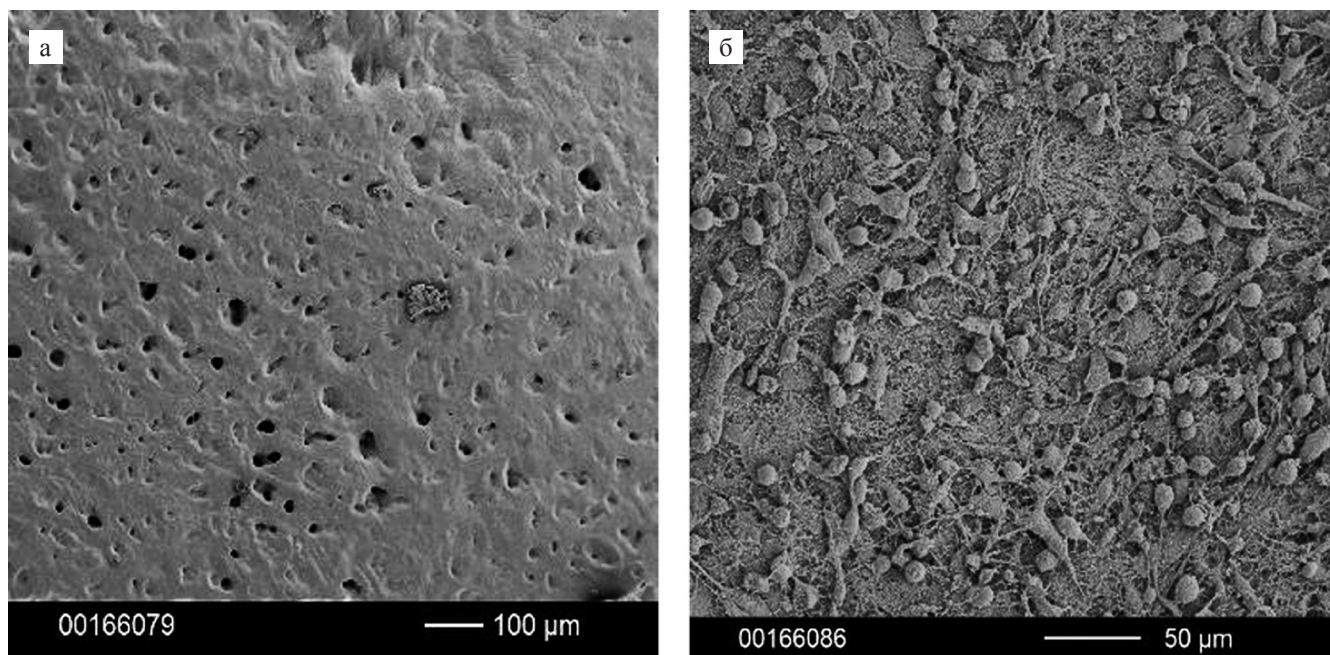


Рис. 1. Высокоплотный матрикс-носитель (девитализированная хрящевая ткань трахеи) до выполнения лазерного травления: а – девитализированный матрикс, визуализируются пустые лакуны на поверхности хрящевой ткани, окруженные плотным, преимущественно интактным матриксом; б – матрикс после выполнения лазерного травления, ревитализированный путем заселения назальными хондроцитами, которые плотно заселяют поверхность материала. Сканирующая электронная микроскопия

Fig. 1. High-density scaffold prior to laser engraving: a – devitalized scaffold: empty lacunas surrounded by high-dense extracellular matrix are visible on the cartilage surface, б – laser-engraved scaffold revitalized by nasal chondrocytes, densely colonizing the surface of the material. Scanning electron microscopy

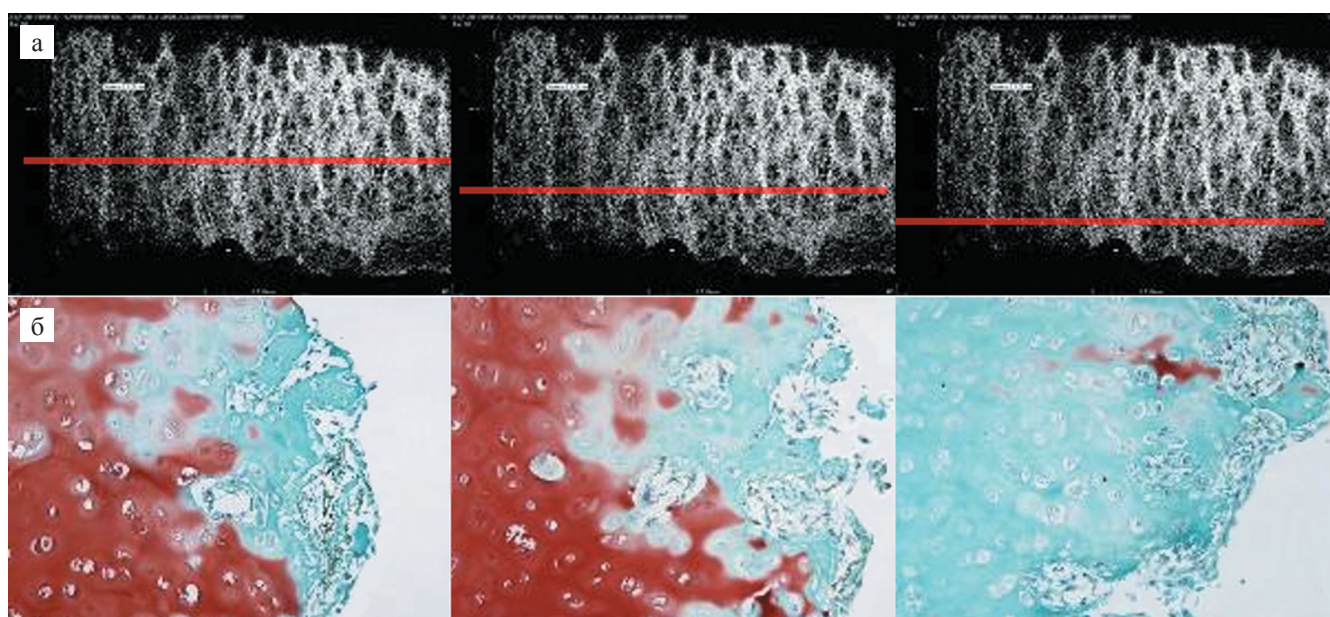


Рис. 2. Тканеинженерная конструкция, полученная в результате заселения матрикса, подвергнутого лазерному травлению, назальными хондроцитами человека: а – тканеинженерная конструкция, рентгеновская микротомография, красным показаны уровни поперечных срезов; б – гистологическое исследование поперечных срезов (перпендикулярно плоскости травления). Окраска: сафранин-О и гематоксилин. Световая микроскопия, ×100

Fig. 2. Tissue-engineered graft generated by revitalization of the laser engraved tracheal cartilage with human nasal chondrocytes: а – tissue engineered graft, X-ray microtomography, red lines showing the cross-section levels; б – histological examination of transects (perpendicular to the direction of engraving). Safranin-O & Hematoxylin staining. Light microscopy, ×100

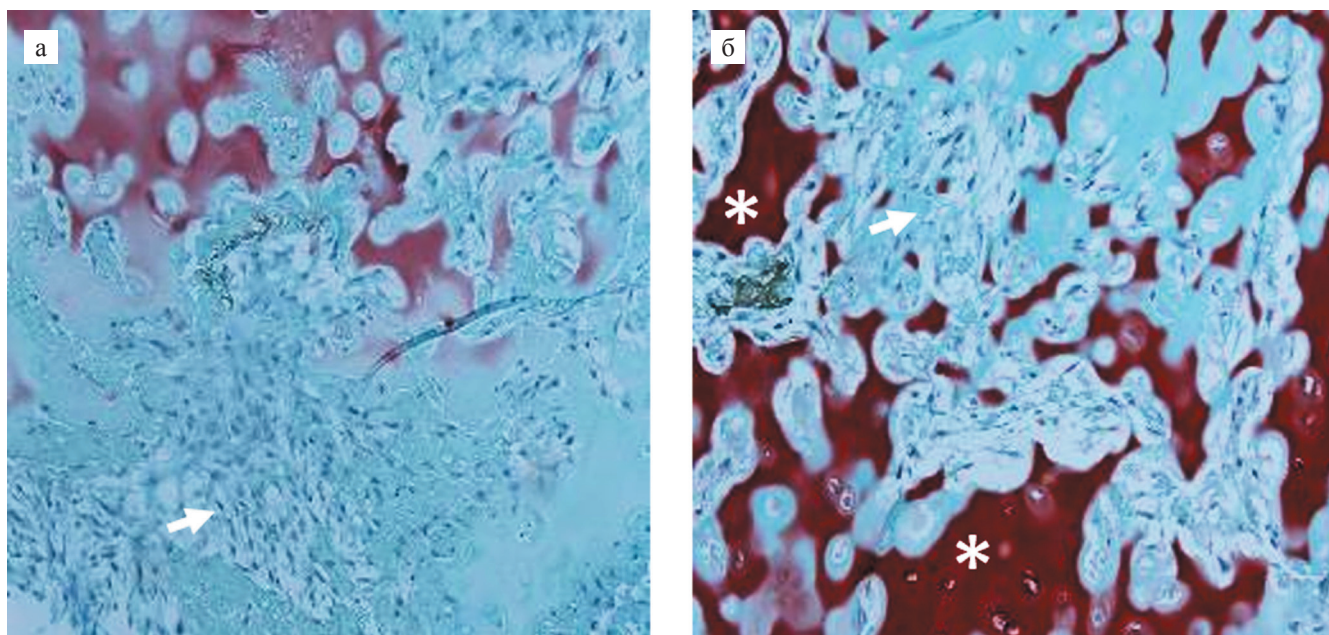


Рис. 3. Тканеинженерная конструкция, полученная в результате заселения матрикса, подвергнутого лазерному травлению, назальными хондроцитами человека при непрерывном воздействии IL-1 β : область хрящевого матрикса отмечена звездочками, заселенные назальные хондроциты отмечены стрелками. Гистологическое исследование поперечных срезов (перпендикулярно плоскости травления). Окраска: сафранин-О и гематоксилин. Световая микроскопия, $\times 100$

Fig. 3. Tissue-engineered graft obtained by revitalization of the laser engraved scaffold with human nasal chondrocytes under continuous exposure to IL-1 β in the culture medium: the cartilage scaffold marked by asterisks, the nasal chondrocytes marked by arrows. Histological study of transverse sections (perpendicular to the direction of the engraving). Safranin-O & Hematoxylin staining. Light microscopy, $\times 100$

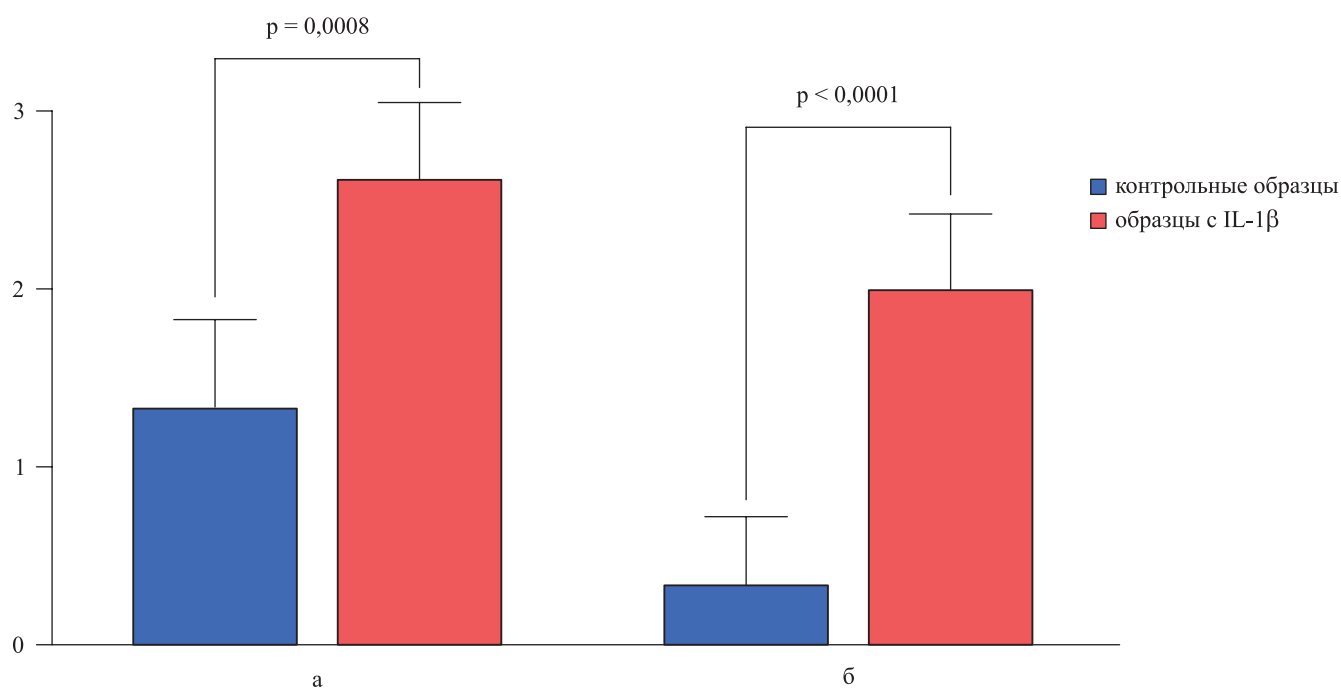


Рис. 4. Оценка значений интенсивности колонизации матрикса назальными хондроцитами человека (а) и миграции назальных хондроцитов за пределы лунок (б) в контрольных условиях и в присутствии IL-1 β . Данные представлены в виде «среднее \pm стандартное отклонение»

Fig. 4. Assessment of the values of intensity of scaffold colonization with human nasal chondrocytes (a) and migration of nasal chondrocytes outside the lacunae (b) under control conditions and in the presence of IL-1 β . Values are means \pm SD

оказывая, тем не менее, неоднозначное влияние на качество формируемой тканеинженерной конструкции. Добавление IL-1 β качественно улучшает колонизацию лунок матрикса хондроцитами, увеличивает плотность заселения конструкции клетками реципиента, в том числе и за счет усиленной миграции клеток в толщу межклеточного вещества, что хорошо соотносится с литературными данными об участии IL-1 β в регуляции процессов клеточной пролиферации, дифференцировки и апоптоза [17, 18]. Можно предположить, что хронический асептический пролиферативный (продуктивный) воспалительный процесс в области имплантации ревитализированной тканеинженерной конструкции также будет дополнительно способствовать колонизации матрикса предварительно внедренными клетками реципиента. При этом гистологические исследования демонстрируют частичное или практически полное разрушение микроархитектоники матрикса при его колонизации под действием IL-1 β : стираются границы отдельных лунок, снижается объем межклеточного вещества. Последнее может негативно сказаться на механических характеристиках тканеинженерной конструкции. Данный эффект может быть обусловлен усилением синтеза металлопротеиназ хондроцитами под действием IL-1 β [19]. Сравнительные исследования механических характеристик готовой конструкции могут являться предметом дальнейших исследований.

Таким образом, была показана возможность эффективной ревитализации матриксов, подвергнутых лазерному травлению, с колонизацией лунок матрикса назальными хондроцитами человека при сохранении основного объема исходного межклеточного вещества хрящевой ткани. Было доказано, что добавление провоспалительного цитокина IL-1 β к культуральной среде стимулирует колонизацию матрикса-носителя хондроцитами, что является одним из необходимых условий получения полноценных ревитализированных материалов, предназначенных для тканевой инженерии трахеи.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Добавление провоспалительного цитокина IL-1 β в физиологически релевантной воспалению концентрации 1 мкг/мл к полной питательной среде DMEM с высоким содержанием глюкозы – 4,5 г/л, 5% FBS, инсулином и аскорбиновой кислотой способствует объемному заселению назальными хондроцитами девитализированного матрикса на основе хрящевой ткани трахеи, но вместе с тем может являться причиной нарушения сложной микроархитектоники естественного межклеточного вещества хрящевой ткани. Стимулирование заселения клетками нативного матрикса может использоваться для получения

высокоэффективных ревитализированных материалов для тканевой инженерии трахеи.

Настоящая работа выполнена при поддержке соглашения о субсидии Минобрнауки РФ № 14.614.21.0001 (ID RFMEFI61417X0001) с использованием оборудования ЦКП «Регенеративная медицина» (ID 310020) и УНУ (506197).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Барановский ДС, Демченко АГ, Оганесян РВ, Лебедев ГВ, Берсенева ДА, Балясин МВ и др. Получение бесклеточного матрикса хряща трахеи для тканеинженерных конструкций. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2017; 72 (4): 254–260. Baranovsky DS, Demchenko AG, Oganesyans RV, Lebedev GV, Berseneva DA, Balyasin MV et al. Acellular tracheal cartilaginous scaffold producing for tissue-engineered constructs. *Vestn Ross Akad Med Nauk*. 2017; 72 (4): 254–260. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15690/vramn723.
2. Кувяда ЕВ, Губарева ЕА, Сотниченко АС, Гуменюк ИС, Гилевич ИВ, Поляков ИС и др. Опыт перфузионной рецеллюляризации биологического каркаса легких крысы. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2016; 18 (1): 38–44. Kuevda EV, Gubareva EA, Sotnichenko AS, Gumenyuk IS, Gilevich IV, Polyakov IS et al. Experience of perfusion recellularization of biological lung scaffold in rats. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2016; 18 (1): 38–44. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15825/1995-1191-2016-1-38-44.
3. Люндуп АВ, Демченко АГ, Тенчурин ТХ, Крашенинников МЕ, Клабуков ИД, Шепелев АД и др. Повышение эффективности заселения биодеградируемых матриксов стромальными и эпителиальными клетками при динамическом культивировании. *Гены и клетки*. 2016; 11 (3): 102–107. Lyundup AV, Demchenko AG, Tenchurin TH, Krasheninnikov ME, Klabukov ID, Shepelev AD et al. Improving the seeding effectiveness of stromal and epithelial cell cultures in biodegradable matrices by dynamic cultivation. *Genes and Cells*. 2016; 11 (3): 102–107. [In Russ, English abstract].
4. Bourguin PE, Gaudiello E, Pippenger B, Jaquiere C, Klein T, Pigeot S et al. Engineered extracellular matrices as biomaterials of tunable composition and function. *Adv Funct Mater*. 2017; 27 (7): 1605486. doi: 10.1002/adfm.201605486.
5. Lammi MJ, Piltti J, Prittinen J, Qu C. Challenges in Fabrication of Tissue-Engineered Cartilage with Correct Cellular Colonization and Extracellular Matrix As-

- sembly. *Int J Mol Sci.* 2018; 19 (9): 2700. doi: 10.3390/ijms19092700.
6. *Smajic J, Tupkovic LR, Husic S, Avdagic SS, Hodzic S, Imamovic S.* Systemic inflammatory response syndrome in surgical patients. *Med Arch.* 2018; 72 (2): 116–119. doi: 10.5455/medarh.2018.72.116-119.
 7. *Iwamoto M, Koike T, Nakashima K, Sato K, Kato Y.* Interleukin 1: a regulator of chondrocyte proliferation. *Immunol Lett.* 1989; 21 (2): 153–156. doi: 10.1016/0165-2478(89)90052-7.
 8. *Simsa-Maziel S, Monsonogo-Ornan E.* Interleukin-1 β promotes proliferation and inhibits differentiation of chondrocytes through a mechanism involving down-regulation of FGFR-3 and p21. *Endocrinology.* 2012; 153 (5): 2296–2310. doi: 10.1210/en.2011-1756.
 9. *Mumme M, Scotti C, Papadimitropoulos A, Todorov A, Hoffmann W, Bocelli-Tyndall C et al.* Interleukin-1 β modulates endochondral ossification by human adult bone marrow stromal cells. *Eur Cell Mater.* 2012; 24: 224–236. doi: 10.22203/eCM.v024a16.
 10. *Joos H, Albrecht W, Laufer S, Reichel H, Brenner RE.* IL-1 β regulates FHL2 and other cytoskeleton-related genes in human chondrocytes. *Mol Med.* 2008; 14 (3–4): 150–159. doi: 10.2119/2007-00118.Joos.
 11. *Chowdhury TT, Appleby RN, Salter DM, Bader DA, Lee DA.* Integrin-mediated mechanotransduction in IL-1 β stimulated chondrocytes. *Biomech Model Mechanobiol.* 2006; 5 (2–3): 192. doi: 10.1007/s10237-006-0032-3.
 12. *Bader DL, Salter DM, Chowdhury TT.* Biomechanical influence of cartilage homeostasis in health and disease. *Arthritis.* 2011; 2011: 979032. doi: 10.1155/2011/979032
 13. *Preiss DS, Meyle J.* Interleukin-1 β concentration of gingival crevicular fluid. *J Periodontol.* 1994; 65 (5): 423–428. doi: 10.1902/jop.1994.65.5.423.
 14. *Bielemann AM, Marcello-Machado RM, Leite FRM, Martinho FC, Chagas-Júnior OL, Del Bel Cury AA et al.* Comparison between inflammation-related markers in peri-implant crevicular fluid and clinical parameters during osseointegration in edentulous jaws. *Clin Oral Investig.* 2018; 22 (1): 531–543. doi: 10.1007/s00784-017-2169-0.
 15. *Lillie RD.* HJ Conn's Biological Stains. 9th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1977.
 16. *Grogan SP, Barbero A, Winkelmann V, Rieser F, Fitzsimmons JS, O'Driscoll S et al.* Visual Histological Grading System for the Evaluation of *in vitro*-Generated Neocartilage. *Tissue Eng.* 2006; 12 (8): 2141–2149. doi: 10.1089/ten.2006.12.2141.
 17. *Akanji OO, Sakthithasan P, Salter DM, Chowdhury TT.* Dynamic compression alters NF κ B activation and I κ B- α expression in IL-1 β -stimulated chondrocyte/agarose constructs. *Inflamm Res.* 2010; 59 (1): 41–52. doi: 10.1007/s00011-009-0068-9.
 18. *Smith DW, Gardiner BS, Zhang L, Grodzinsky AJ.* Cartilage Tissue Homeostasis. *Articular Cartilage Dynamics.* Singapore: Springer; 2019: 65–243. doi: 10.1007/978-981-13-1474-2_2.
 19. *Goldring MB, Birkhead JR, Suen LF, Yamin R, Mizuno S, Glowacki J et al.* Interleukin-1 beta-modulated gene expression in immortalized human chondrocytes. *J Clin Invest.* 1994; 94 (6): 2307–2316. doi: 10.1172/JCI117595.

Статья поступила в редакцию 11.10.2019 г.

The article was submitted to the journal on 11.10.2019