

Клеточные технологии в регенерации сухожилий: от клетки до тканевой инженерии

Дремина Н.Н., Трухан И.С., Шурыгина И.А.

ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов революции, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Дремина Наталья Николаевна, e-mail: drema76@mail.ru

Резюме

Травмы и дегенеративные изменения сухожилий являются распространёнными повреждениями опорно-двигательного аппарата. Из-за гиповаскулярной природы сухожилие имеет ограниченную естественную способность к восстановлению. При стандартном хирургическом лечении целостность повреждённого сухожилия восстанавливается, однако в большинстве случаев происходит формирование соединительнотканного рубца, нарушающего структурную и механическую функциональность. Недостаточная эффективность традиционного лечения требует поиска альтернативных способов восстановления повреждённых сухожильных тканей. В данной статье обсуждаются новые, эффективные возможности улучшения лечения повреждённых сухожилий с применением клеточных технологий, где одним из основных направлений является применение мезенхимальных стволовых клеток. Благодаря мезенхимальным стволовым клеткам происходит сдвиг от профиброзных и провоспалительных реакций клеток к про-регенеративным. Стволовые клетки, являясь мультипотентными и обладая, в том числе, мезенхимным потенциалом, считаются перспективным материалом для восстановления повреждённых сухожилий. Также в статье описываются источники прогениторных сухожильных клеток: сухожильные пучки, перициты, основными маркерами которых являются *Scx*, *Mkx* – белки суперсемейства факторов транскрипции и *Tnmd* – трансмембранный гликопротеин.

Рассмотрены ростовые факторы, которые не только усиливают пролиферативную активность мезенхимальных стволовых клеток, но и способствуют экспрессии мезенхимных генов *in vitro*, а также выработке коллагена типа I, необходимого для формирования сухожилий. Наряду с ростовыми факторами представлен морфогенетический белок *BMP14*, усиливающий пролиферацию мезенхимальных стволовых клеток, а также способствующий направленной мезенхимной дифференцировке данных клеток, подавляя адипогенный и хондрогенный потенциалы.

В последние годы мезенхимальные стволовые клетки применяют как отдельно, так и в сочетании с различными ростовыми факторами и разнообразными трёхмерными конструкциями, обеспечивающими взаимодействие всех типов клеток.

Обсуждаются вопросы новейшей технологии 3D-биопечати, позволяющей изготовить тканеподобные структуры для замены повреждённых тканей, органов. Технология 3D-биопечати способна осуществлять точный пространственно-временной контроль распределения клеток, факторов роста, малых молекул, лекарственных препаратов и биологически активных веществ.

Ключевые слова: клеточные технологии, регенерация сухожилия, мезенхимальные стволовые клетки, репарация, травматология, 3D-биопечать

Для цитирования: Дремина Н.Н., Трухан И.С., Шурыгина И.А. Клеточные технологии в регенерации сухожилий: от клетки до тканевой инженерии. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 165-175. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.19.

Cellular Technologies in Traumatology: From Cells to Tissue Engineering

Dremina N.N., Trukhan I.S., Shurygina I.A.

Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author: Natalia N. Dremina, e-mail: drema76@mail.ru

Abstract

Injuries and degenerative changes of tendons are common damages of the musculoskeletal system. Due to its hypovascular character the tendon has a limited natural ability to recover. For typical surgical treatment, the tendon integrity is restored, but in most cases, there occurs formation of the connective tissue scar resulting in structural and mechanical functionality disruption. The insufficient effectiveness of traditional therapy methods requires the search for alternative ways to restore damaged tendon tissues. This article discusses new effective methods for improving the treatment that base on the use of cellular technologies among which one of the main directions is mesenchymal stem cell application. Due to mesenchymal stem cells, there is a shift from pro-fibrotic and pro-inflammatory reactions of cells to pro-regenerative ones. Stem cells being multipotent and having among other things tenogenic potential are considered a promising material for repairing damaged tendons. The article also describes the sources of progenitor tendon cells including the tendon bundles and pericytes the main markers of which are *Scx* and *Mkx* that are proteins of the transcription factor superfamily, and *Tnmd* that is transmembrane glycoprotein.

The growth factors that not only enhance the proliferative activity of mesenchymal stem cells but also promote *in vitro* tenogenic genes expression as well as the collagen I type production what is necessary for tendon formation are considered. Along with growth factors, the morphogenetic protein *BMP14* is presented, this protein increases the mesenchymal stem cell proliferation and contributes directed tenogenic differentiation of these cells, suppressing their adipogenic and chondrogenic potentials.

In recent years, mesenchymal stem cells have been used both separately and in combination with various growth factors and different three-dimensional structures providing the interaction with all of the cell types.

The issues of the latest 3D-bioprinting technology allowing to make tissue-like structures for replacement damaged tissues and organs are discussed. 3D-bioprinting technology is known to allow acting exact spatio-temporal control of the distribution of cells, growth factors, small molecules, drugs and biologically active substances.

Key words: cell technologies, mesenchymal stem cells, reparation, traumatology, tendon, 3D-bioprinting

For citation: Dremina N.N., Trukhan I.S., Shurygina I.A. Cellular Technologies in Traumatology: From Cells to Tissue Engineering. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 166-175. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.19.

ВВЕДЕНИЕ

Повреждения сухожилий и связок, возникающие при травмах и дегенеративных нарушениях, составляющих до 45 % всех травм опорно-двигательного аппарата [1, 2, 3], часто приводят к необратимым последствиям и инвалидизации не только пожилых людей, но и трудоспособного населения [4]. Терапевтическое лечение в этом случае не является эффективным, так как ухудшаются биомеханические свойства повреждённых сухожилий и связок, с последующим выраженным болевым синдромом [5]. Хирургическое лечение до сих пор остаётся ведущим методом устранения разрыва сухожилия и физически восстанавливает повреждённые ткани. Однако восстановленная таким образом ткань не обладает способностью к регенерации до состояния, предшествующего травме. Вместо этого заживление происходит с образованием рубца, что ставит под угрозу дальнейшую механическую и структурную функциональность сухожилия [6]. Из-за гиповаскулярной природы заживление происходит медленно и часто не полностью, поэтому риск повторного разрыва сухожилия или связки остаётся высоким [7, 8, 9]. Перспективным направлением в регенерации повреждённых сухожилий является применение клеточных технологий. В данной обзорной статье обобщены современные достижения тканевой инженерии сухожилий, рассмотрены различные, используемые в настоящее время, материалы и способы их применения для восстановления повреждённых сухожилий, как у животных, так и у человека.

ТРАНСПЛАНТАТЫ В РЕГЕНЕРАЦИИ СУХОЖИЛИЙ

Для изучения регенерации сухожилий проведён ряд исследований, где использовали такие материалы, как аутооттрансплантаты [4, 10], аллотрансплантаты [11], ксенотрансплантаты [12] и синтетические материалы. Однако предлагаемые методы имели негативные последствия или отсутствие ожидаемого эффекта.

Так, при использовании подслизистой оболочки свиной кишки, по оценке клинических результатов, скорость репарации вращательной манжеты плеча не увеличилась, и данный метод посчитали неэффективным [13]. В других исследованиях отмечалось неполное заживление, меньший диапазон движений, послеоперационное воспаление, повторный разрыв и высокая частота осложнений [13]. Некоторые авторы указывали также на высокие уровни ДНК, присутствующие в матрице трансплантата [13]. В результате иммуногенности и плохих результатов использование ксеногенного трансплантата, изготовленного из слизистой оболочки тонкой кишки свиньи, не рекомендуется [12].

Ксенотрансплантат ZCR (Zimmer Collagen Repair) – пластырь для восстановления коллагена, представляющий собой бесклеточный лист из свиной дермы, демонстрировал неоднозначные результаты. В первой группе пациентов отмечалось значительное снижение послеоперационной боли, увеличение силы и диапазо-

на движений, однако исследование не включало контрольную группу для оценки результатов по сравнению с традиционным восстановлением сухожилия. В другой группе исследования с использованием ZCR отмечались неудовлетворительные клинические результаты: наличие воспалительных реакций абсолютно у всех пациентов, а также признаки распада трансплантата, некроза тканей и повторного разрыва; однако пациенты были в возрасте от 71 до 82 лет, что снижало вероятность успешной интеграции трансплантата и выживаемости из-за неоптимального качества тканей у пожилых людей. Поэтому не существует единого мнения относительно надёжности ZCR [12].

При использовании аллотрансплантата матрикса кожи человека, наблюдалось снижение болевого синдрома, некоторое улучшение диапазона движений, увеличение силы и субъективных функциональных результатов. Но ожидаемого функционального восстановления при этом не выявлено [14].

По мнению Vincenzo Condello с коллегами (2019), для ревизионной реконструкции передней крестообразной связки применение аллоткани является более выгодным вариантом, так как использование аутооттрансплантата может привести к выраженному болевому синдрому донорского участка, нестабильности, а также в тех случаях, когда имеются клинические и рентгенологические признаки дегенерации аутологичных сухожилий [11]. Такого же мнения придерживается и Patrick Smith с коллегами (2019), считающие, что использование аутооттрансплантата сухожилия надколенника связано со значительными осложнениями и ранним началом остеоартроза коленного сустава. Они считают, что новый аллотрансплантат сухожилия четырёхглавой мышцы с синтетической аугментацией или внутренняя скоба QTIB (quadriceps tendon internal brace) в сочетании с богатой тромбоцитами плазмой имеет потенциальные преимущества для реконструкции передней крестообразной связки [15, 16]. Однако некоторые исследователи считают, что успех зависит от таких факторов, как выбор пациента, хирургической техники с учётом сопутствующих поражений, а также послеоперационной реабилитации. В то время как выбор трансплантата вторичен и не является ключом к успеху [17].

Сложными в реконструкции остаются повреждения сгибателей пальцев рук, восстановление которых проходит в несколько этапов. Хирурги предлагают такие операции, как тенodes, заведомо ограничивающий определенные виды движения в суставе даже при использовании периферических отрезков собственных сухожилий, или артродез, после которого подвижность в суставе утрачивается [18]. Сообщается также, что интрасиновиальные трансплантаты сгибателей пальцев кисти и сгибателей пальцев ног имеют лучшие морфологические и функциональные характеристики, чем экстрасиновиальные трансплантаты, использование которых приводит к большему образованию спаек. Однако нет клини-

ческих доказательств, которые чётко демонстрируют превосходство интрасиновиальных трансплантатов над экстраиновиальными, что подразумевает дальнейшие исследования в этом направлении.

Синтетические трансплантаты изготавливаются из различных химических соединений и состоят из полимеров, изготовленных из полиэстера, полипропилена, полиакриламида, лавсана, углерода, кремния или нейлона. Исследования показали, что синтетические трансплантаты механически прочнее биологических и стабильны по качеству. Однако проблемы биосовместимости остаются актуальными, поскольку реакции, вторичные по отношению к размещению синтетических инородных тел, увеличивают риск инфекции, нестабильности, а также различных осложнений в виде синовита, остеолиза и остеоартрита [12].

РЕГЕНЕРАТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ КЛЕТОК ПРИ ПОВРЕЖДЕНИЯХ СУХОЖИЛИЙ

После травмы заживление тканей обычно происходит в непрерывном процессе, состоящем из стадий: начальной воспалительной инфильтративной реакции, при которой воспалительные клетки играют решающую роль в тендинопатиях и заживлении сухожилий; затем следует фибробластическая стадия и длительная фаза ремоделирования сухожилия. Часто заживление тканей связано с профиброзным сценарием, который приводит к образованию рубцов, а не к нормальной регенерации тканей [19, 20].

Заживление сухожилий без образования фиброзного рубца в настоящее время представляет большой интерес для исследователей и врачей всего мира. Учитывая отсутствие стандартизированных протоколов и маркеров теногенной дифференцировки, выбор идеального источника клеток представляет собой серьёзную проблему при попытке проведения эффективной клеточной терапии. Наиболее перспективным направлением при этом является применение мезенхимальных стволовых клеток (МСК), обладающих высокой скоростью клеточной пролиферации, способностью к мультипотентной дифференцировке и представляющих собой материал для замещения повреждённых структур [21, 22]. Использование МСК в регенеративной медицине, и в регенерации повреждённых сухожилий в частности, даёт надежду повлиять на восстановительный процесс и перенаправить клеточный потенциал от провоспалительных и профиброзных к прорегенеративным клеточным реакциям, что в свою очередь уменьшит инфильтративную фазу воспаления и будет способствовать упорядоченному отложению компонентов внутриклеточного матрикса.

Сегодня МСК могут применяться как в аутологических, так и в аллогенных условиях и могут быть получены из сухожильных или нес сухожильных тканей. Стволовые клетки сухожилий часто получают в виде гетерогенной популяции стволовых и прогениторных клеток, где сухожильные стволовые клетки составляют 1–4 % от общего числа ядродержащих клеток в сухожильных тканях [23].

Вырастить **сухожилия** *in vitro* впервые удалось в 2004 г. Sarah Calve с коллегами. Прогениторные клетки были получены непосредственно из ахиллова сухожилия крыс, которые затем культивировали до образования монослоя. Полученная таким образом ткань состояла из коллагеновых фибрилл, большого количества вне-

клеточного матрикса, что в целом характеризовало ткань как эмбриональное сухожилие. Предел прочности при растяжении был равен пределу прочности эмбрионального сухожилия цыплёнка, примерно 2 МПа. Эти физические и механические свойства указывают на то, что полученная ткань является первым жизнеспособным сухожилием, выращенным *in vitro* [24].

Клетки, которые дают начало сухожилиям, когда-то считались однородными и отличались в основном фибробластической морфологией и расположением. В последние годы предполагают наличие различных популяций внутри резидентных клеток. Прогениторные клетки сухожилий преимущественно находятся в сухожильных пучках I и II порядка, а также в соединительной ткани, разделяющей сухожильные пучки II порядка – эндотенонии и наружной оболочки сухожилия – эпитеинонии [25]. Сравнительные исследования *in vitro* клеток сухожилия, полученных из сухожильных пучков и эпитеинонии, показывают, что, хотя обе популяции содержат прогениторные клетки сухожилия, клетки эпитеинонии обладают меньшей колониеобразующей способностью по сравнению с клетками, полученными из сухожильного пучка. Кроме того, сухожильные клетки из эндотенона экспрессировали маркер стволовых клеток Sca-1, а также маркеры фибробластов CD90.2 и CD44 по сравнению с клетками из эпитеинона. Также они демонстрировали более высокие уровни экспрессии теногенных маркеров: Scx (Scleraxis) – фактора транскрипции, который экспрессируется у эмбриональных предшественников и остаётся экспрессированным на постнатальных стадиях; гликопротеина Tnmd (Теномодулин) по сравнению с предшественниками из эпитеинонов [26]. Другие маркеры сухожилий включают транскрипционные факторы Mohawk (Mkx) [27], белки раннего ответа роста 1 и 2 (Egr1, Egr2) [28]. Кроме того, ключевые компоненты внеклеточного матрикса, такие как коллаген I типа $\alpha 1$ (Col1a1) и декорин, часто используются в качестве маркеров для дифференцированных клеток сухожилия.

Наряду с этим перициты также могут служить источником предшественников эпитеинона. Несмотря на то, что сухожильные пучки считаются аваскулярными, кровеносные сосуды, поставляющие питательные вещества, присутствуют. Полученные из сухожильных пучков клетки в большей степени экспрессируют сосудистые и перицитарные маркеры, такие как эндомуцин (Emcn), Musashi1 (Msi1), CD133 и нестин (Nes) [29].

При культивировании полученных прогениторных клеток сухожилия одним из основных недостатков является фенотипическое изменение на более поздних пассажах: снижается скорость пролиферации, продукции внеклеточного матрикса и экспрессия маркеров [30]. Однако известно, что в эмбриональных стволовых клетках и стволовых клетках костного мозга гипоксия способствует пролиферации при одновременном снижении спонтанной дифференцировки и апоптоза, что успешно было применено и к сухожильным клеткам [31].

Усиливают пролиферативную активность и ростовые факторы, такие как фактор роста соединительной ткани (CTGF), тромбоцитарный фактор роста BB (PDGFBB), основной фактор роста фибробластов (FGFb) и инсулиноподобный фактор роста-1 (IGF1). В некоторых случаях применение этих факторов индуцировало экспрессию теногенных генов *in vitro*. Немаловажную роль играют

фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) и фактор роста гепатоцитов (HGF), ускоряющие клеточную пролиферацию и выработку коллагена типа I [32, 33, 34]. Однако применение нескольких ростовых факторов может приводить к неожиданным эффектам. Так, PDGF β в сочетании с IGF1 снижает экспрессию теногенных маркеров [35].

Для индуцирования тканеспецифической дифференцировки прибегают к активации или ингибированию сигнальных путей. Для развития сухожилий это сигнальный путь Tgf β [36]. Морфогенетический белок BMP14 повышает экспрессию Scx при одновременном снижении адипогенного и хондрогенного потенциала, также увеличивает пролиферацию клеток и содержание матрикса в зависимости от времени и дозы. Индуцированию теногенной дифференцировки и образованию неосухожильной способствует также одноосная механическая нагрузка, которая ещё и предотвращает фенотипические изменения.

ПРИМЕНЕНИЕ МСК ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ СУХОЖИЛИЙ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Многочисленные успешные эксперименты с использованием МСК для восстановления повреждённых сухожилий подтверждают эффективность применения данных клеток. В эксперименте с повреждённым сухожилием сгибателя задней лапы у новозеландских кроликов после операции были введены аутологичные стволовые клетки, выделенные из жировой ткани. Спустя 4 недели выявлено, что сухожилия имеют большую площадь сечения, меньшую жёсткость и меньшую предельную растягивающую нагрузку в сравнении с животными, которым МСК не вводили. В данном эксперименте пришли к выводу, что МСК успешно участвуют в дифференцировке теноцитов на ранних стадиях регенерации и вносят значительный вклад в дальнейшую реконструкцию сухожилий [8]. Однако увеличение площади поперечного сечения может ухудшить движение сухожилия впоследствии, а также в данном эксперименте не проведены гистологическая или функциональная оценки, что подразумевает дальнейшие исследования.

Благоприятное воздействие стволовых клеток из жировой ткани подтвердили и другие исследователи, показавшие, что местное введение стволовых клеток способно улучшить функцию мышц и заживление сухожилий, а также уменьшить жировую инфильтрацию после восстановления вращательной манжеты плеча [37, 38].

Образование неосухожильной ткани наблюдали Ming Ni с коллегами (2013). Полученная ими *in vitro* незрелая рыхлая и дезорганизованная структура из теноцитов и внеклеточного матрикса подкожно имплантирована экспериментальным животным. В течение последующих 12 недель происходило образование неосухожильной ткани со зрелыми и выровненными коллагеновыми фибриллами [39].

Таким образом, терапия на основе стволовых клеток является перспективным направлением для восстановления и регенерации тканей, в том числе при травмах и дегенеративных нарушениях сухожилий и связок.

3D-КУЛЬТИВИРОВАНИЕ

Для восстановления повреждённых сухожильных тканей наряду с введением непосредственно МСК, в последнее время все чаще прибегают к созданию трёх-

мерных конструкций. 3D-культивирование включает не только взаимодействие различных типов клеток, но и взаимодействие клеток с различными биоматериалами, а также позволяет получать клетки со специализированными свойствами для реконструкции органов и тканей. Современные трёхмерные методы культивирования клеток основаны на органоидах, инкапсуляции клеток на гидрогелях или выращивании клеток на каркасах вместо плоских поверхностей. Органоиды – трёхмерные многоклеточные тканевые конструкции, которые способны расти в гелях и в суспензии, образуя органоидоподобные структуры [40]. Клеточная инкапсуляция обеспечивает выживание клеток и отложение внеклеточного матрикса, позволяя при этом анализировать сложные клеточные взаимодействия [41]. С другой стороны, каркасы обеспечивают удобную поддержку клеток благодаря своей пористости, облегчая транспортировку кислорода, питательных веществ и продуктов метаболизма [42]. Эти системы более близки к физиологическим характеристикам тканей, обеспечивая структурную прочность на растяжение, клеточную адгезию, полярность, миграцию и пролиферацию.

В качестве биоразлагаемых полимерных каркасов используют различные макропористые микроносители, которые различаются по составу, типу покрытия и способу получения. Они могут быть белковыми (коллаген, фибрин, эластин, желатин, полимеры на желатиновой основе) и полисахаридными (хитозан, гиалуроновая кислота, агар, декстран, альгинат), обеспечивая культивируемым клеткам необходимое микроокружение для создания и улучшения межклеточных взаимодействий, регуляторных систем и стимулируя клеточную пролиферацию [43]. Также микроносители должны соответствовать таким критериям, как отсутствие токсичности, обладать свойствами улучшения адгезии, фиксации и дифференцировки клеток, быть механически прочными и способными к своевременной биорезорбции естественным путём [44, 45]. А с точки зрения пористости, рекомендуемый размер пор для роста капилляров составляет 50 мкм, а для роста, например, новых остеонов в порах необходим размер 200 мкм.

При 3D-культивировании клетки прикрепляются к поверхности частиц микроносителя, пролиферируют, образуя монослой на каждой частице. Впервые об этом методе сообщили в 2001 г. R. Quarto с коллегами, которые использовали культивированные МСК костного мозга в сочетании с гидроксипатитовыми блоками для заполнения больших костных дефектов (4–7 см), успешно провели хирургическое лечение нескольких пациентов и подтвердили заживление дефектов [46, 47].

Для восстановления повреждённых связок в последнее время широко используют фибриновые гели, коллагеновые гидрогели, инженерные плёнки сухожильного матрикса, которые не только индуцируют теногенную дифференцировку *in vitro*, но и являются успешным средством доставки стволовых клеток к месту сухожильного дефекта *in vivo*. Даже в отсутствии динамической циклической нагрузки линейная 3D-среда и одноосное статическое натяжение достаточны для ориентирования стволовых клеток вдоль оси натяжения, что приводит к выравниванию отложения коллагена и повышению регуляции маркеров сухожилий. А дополнительная обработка ростовыми факторами, макромолекулами

усиливает теногенную дифференцировку и улучшает последующее заживление после имплантации конструкции [1, 48].

Потенциалом для имитации структуры нативной ткани наряду с желаемыми механическими свойствами обладают многослойные композитные каркасы, в которых электроспановая нановолокнистая подложка была покрыта тонким слоем клеточного гидрогеля. Вся композиция конструкции была оптимизирована для достижения адекватных механических и физических свойств, а также жизнеспособности и пролиферации клеток. МСК дифференцировали добавлением костного морфогенетического белка 12 (BMP-12). Чтобы имитировать естественную функцию сухожилий, клеточные каркасы подвергались механической стимуляции с помощью специально изготовленного биореактора. Синергетический эффект механической и биохимической стимуляции наблюдался с точки зрения повышения жизнеспособности клеток, пролиферации, выравнивания и теногенной дифференцировки. Полученные результаты позволили предположить, что предложенные конструкции могут быть использованы для конструирования функциональных сухожилий [49].

Несмотря на успешные работы, традиционные тканеинженерные методы, основанные на посеве клеток в скаффолд, не могут создать конструкцию, чтобы точно контролировать внутреннюю структуру, распределение клеток и микроокружение, что ограничивает их дальнейшее применение [50].

3D-БИОПЕЧАТЬ

Сегодня существует новейшая технология 3D-биопечати, которая использует комбинации 3D-печати, тканевой инженерии, биологии развития и регенеративной медицины для создания биомиметических тканей. Данная технология использует послойный способ депонирования биоматериалов для изготовления тканеподобных структур в областях тканевой инженерии и является перспективной альтернативой изготовлению 3D-функциональных тканевых конструкций с геометрически определенными структурами, которые предназначены для замены или регенерации повреждённых тканей или органов, таких как печень, кости, кожа, печень, хрящи, нервы и сердце [51]. В частности, по сравнению с традиционными подходами на основе скаффолдов, технология 3D-биопечати может точно контролировать сложную 3D-архитектуру, множественные композиции и пространственные распределения, а также способна направлять формирование тканей для лечения пациента путём точного пространственно-временного контроля распределения клеток, факторов роста, малых молекул, лекарственных препаратов и других биологически активных веществ. Так, в эксперименте были изготовлены 3D-печатные трёхслойные каркасы с пространственно поставляемыми ростовыми факторами CTGF, CTGF + TGFβ3 и BMP2, где CTGF является мощным теногенным сигналом, а комбинация CTGF и TGFβ3 – индукторами фибрино-хрящевой дифференцировки МСК. Конструкция была имплантирована на границе между сухожилием и костью в модели репарации сухожилия надостной мышцы (*supraspinatus*) крысы. Дальнейшее гистологическое исследование показало образование богатой коллагеном ткани на границе «сухожилие – кость», при

этом коллагеновая структура была хорошо организована, по внешнему виду напоминала нативное сухожилие в отличие от группы животных без добавления в конструкцию ростовых факторов, у которых волокнистые структуры были нарушены, и дифференцировка МСК пошла по пути образования фиброзного рубца [52].

Процедура 3D-биопечати включает строго определённые этапы. Для полученной на компьютерной томографии ткани-мишени выполняют точное проектирование и реконструкцию 3D-функциональных тканей с помощью модели автоматизированного проектирования. Далее создаётся дизайн, подбор необходимых биоматериалов и печать на биопринтере [53]. На последнем этапе происходит созревание тканей или органов в перфузионных биореакторах, имитирующих окружающую среду и стимулы естественных тканей. В это время печатные структуры агрегируют, образуя более крупные непрерывные структуры. Кроме того, 3D-биопечать ткани может быть выполнена на месте, и в этом случае биореактором служит человеческое тело.

Для печати живых клеток используют также адаптированный струйный принтер, который создаёт тканеподобные структуры со сложной иерархической архитектурой за счёт использования контролируемого капельного осаждения, а также для создания индивидуальных тканеинженерных систем с сосудистыми сетями [54, 55, 56]. Преимуществом струйной биопечати является высокая скорость, доступность по цене и высокое разрешение, а ограничением – возможностью использования только низковязких биоматериалов. Для повышения структурной стабильности трёхмерных тканевых конструкций необходима дополнительная стадия сшивания в процессе струйной биопечати.

Лазерная биопечать точно депонирует биоматериал в трёхмерном пространственном расположении с помощью источника энергии лазерного излучения, который является высоко монохроматичным, сфокусированным и когерентным [57].

Для изготовления масштабных тканеинженерных конструкций из биоматериалов различной вязкости и однородном распределении клеток используют экструзионную биопечать, которая способна также печатать клетки и ткани с определенным сохранением активности, но с более низкой скоростью [50]. А благодаря нескольким имеющимся экструзионным соплам данная технология печати является перспективной в изготовлении васкуляризованных конструкций с несколькими типами клеток. Именно отсутствие сосудов в 3D-культурах ранее считалось огромной проблемой, ведь васкуляризация играет существенную роль в успешной инженерии тканевых конструкций. Построение сосудистых сетей в трёхмерных тканеинженерных костных конструкциях является критической задачей в поддержании жизнеспособности клеток. В настоящее время для улучшения роста сосудистых сетей и усиления остеогенного потенциала в трёхмерных тканеинженерных костных конструкциях используется множество подходов, которые включают предварительную обработку МСК гипоксией [58], использование нескольких типов сосудистых клеток, агрегированных в виде многоклеточных сфероидов сосудистой ткани [59], добавление в трёхмерную конструкцию необходимых ростовых факторов. Из-за короткого периода полураспада факторы роста быстро элиминируются,

что приводит к недостаточному их количеству. Таким образом, контролируемое длительное высвобождение факторов роста необходимо для формирования сосудов в конструкциях костной ткани.

Одним из ключевых элементов при 3D-биопечати считается выбор типа клеток, которые должны обладать способностью пролиферировать и имитировать физиологическое состояние клеток *in vivo* и *in vitro*. В настоящее время различные типы клеток млекопитающих, такие как остеогенные, а также ангиогенные клетки, успешно используются для изготовления васкуляризованных тканеинженерных конструкций [60]. На сегодняшний день среди множества различных остеогенных клеток МСК являются наиболее используемыми клетками в 3D-биопринтинге для изготовления тканеинженерной ткани, благодаря их дифференцирующему потенциалу и способности к самообновлению. Кроме того, МСК очень чувствительны к микроокружению, включая химические, физические и биологические сигналы. Поэтому функция инкапсулированных стволовых клеток может регулироваться изменением среды биоматериала.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Патология с вовлечением сухожилий и связок представляется одной из наиболее частых форм поражения опорно-двигательного аппарата. Традиционные методы лечения при этом не всегда эффективны. Учитывая недостатки, связанные с трансплантацией тканей, применение мезенхимальных стволовых клеток, являющихся мультипотентными и обладающими способностью к самообновлению, считается новым подходом к восстановлению и будет играть важную роль в будущем [61, 62]. Также новым перспективным подходом для восстановления повреждённых сухожилий является трёхмерная биопечать. Несмотря на отсутствие стандартного руководства для процесса 3D-биопечати сегодня, дальнейшие разработки в этой области в ближайшем будущем поднимут область регенерации костной, хрящевой и сухожильной тканей на новый уровень за счёт создания биомиметических васкуляризованных тканеинженерных конструкций.

Таким образом, тканевая инженерия, основанная на репаративном потенциале мезенхимальных стволовых клеток, доставляемых к месту повреждения сухожилия самостоятельно или в сочетании с биосовместимыми конструкциями или гелями, в зависимости от типа повреждения и стадии заболевания является наиболее перспективным направлением регенеративной медицины [8, 63, 64]. Однако отсутствие протоколов, а также неблагоприятные результаты некоторых исследований предполагают дальнейшее изучение применения мезенхимальных стволовых клеток в регенерации повреждённых сухожилий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Walia B, Huang AH. Tendon stem progenitor cells: Understanding the biology to inform therapeutic strategies for tendon repair. *J Orthop Res.* 2019; 37(6): 1270-1280. doi: 10.1002/jor.24156
2. Andarawis-Puri N, Flatow EL, Soslowsky LJ. Tendon basic science: Development, repair, regeneration, and healing. *J Orthop Res.* 2015; 33(6): 780-784. doi: 10.1002/jor.22869
3. Schneider M, Angele P, Järvinen TAH, Docheva D. Rescue plan for Achilles: Therapeutics steering the fate and functions of stem cells in tendon wound healing. *Adv Drug Deliv Rev.* 2018; 129: 352-375. doi: 10.1016/j.addr.2017.12.016

4. Пономаренко Н.С., Куклин И.А., Монастырев В.В., Михайлов И.Н., Рудаков А.Н., Бубнов А.С. и др. Сравнение результатов хирургического лечения пациентов с повреждением пяточного сухожилия при диастазе II и III степени по Myerson с использованием сухожилия подошвенной мышцы. *Acta biomedica scientifica.* 2018; 3(3): 170-175. doi: 10.29413/ABS.2018-3.3.32

5. D'Addona A, Maffulli N, Formisano S, Rosa D. Inflammation in tendinopathy. *Surgeon.* 2017; 15(5): 297-302. doi: 10.1016/j.surge.2017.04.004

6. Ackerman JE, Studentsova V, Myers M, Buckley MR, Richards MS, Loisel AE. Non-invasive ultrasound quantification of scar tissue volume identifies early functional changes during tendon healing. *J Orthop Res.* 2019; 37(11): 2476-2485. doi: 10.1002/jor.24397

7. Howell K, Chien C, Bell R, Laudier D, Tufa SF, Keene DR, et al. Novel model of tendon regeneration reveals distinct cell mechanisms underlying regenerative and fibrotic tendon healing. *Sci Rep.* 2017; 23(7): 45238. doi: 10.1038/srep45238

8. Santos AL, Silva CG, Barretto LSS, Franciozi CES, Tamaoki MJS, Almeida FG, et al. Biomechanical evaluation of tendon regeneration with adipose-derived stem cell. *J Orthop Res.* 2019; 37(6): 1281-1286. doi: 10.1002/jor.24182

9. Bonnin M, Lustig S, Hutten D. Extensor tendon ruptures after total knee arthroplasty. *Orthop Traumatol Surg Res.* 2016; 102(1): 21-31. doi: 10.1016/j.otsr.2015.06.025

10. Леонова С.Н., Монастырев В.В., Пономаренко Н.С. Использование нового подхода к артроскопической аутопластике передней крестообразной связки при ее травматическом повреждении. *Полутравма.* 2019; 4: 52-57.

11. Condello V, Zdanowicz U, Matteo BD, Spalding T, Gelber PE, Advanti P, et al. Allograft tendons are a safe and effective option for revision ACL reconstruction: A clinical review. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2019; 27(6): 1771-1781. doi: 10.1007/s00167-018-5147-4

12. Gillespie RJ, Knapik DM, Akkus O. Biologic and synthetic grafts in the reconstruction of large to massive rotator cuff tears. *J Am Acad Orthop Surg.* 2016; 24(12): 823-828. doi: 10.5435/JAAOS-D-15-00229

13. Iannotti JP, Codsí MJ, Kwon YW, Derwin K, Ciccone J, Brems JJ. Porcine small intestine submucosa augmentation of surgical repair of chronic two-tendon rotator cuff tears. A randomized, controlled trial. *J Bone Joint Surg Am.* 2006; 88(6): 1238-1244. doi: 10.2106/JBJS.E.00524

14. Gupta AK, Hug K, Berkoff DJ, Boggess BR, Gavigan M, Malley PC, et al. Dermal tissue allograft for the repair of massive irreparable rotator cuff tears. *Am J Sports Med.* 2012; 40(1): 141-147. doi: 10.1177/0363546511422795

15. Smith PA, Stannard JP, Bozynski CC, Kuroki K, Cook CR, Cook JL. Patellar bone-tendon-bone autografts versus quadriceps tendon allograft with synthetic augmentation in a canine model. *J Knee Surg.* 2020; 33(12): 1256-1266. doi: 10.1055/s-0039-1695040

16. Galatz LM, Gerstenfeld L, Heber-Katz E, Rodeo SA. Tendon regeneration and scar formation: The concept of scarless healing. *J Orthop Res.* 2015; 33(6): 823-831. doi: 10.1002/jor.22853

17. Thaanat M, Fayard JM, Sonnery-Cottet B. Hamstring tendons or bone-patellar tendon-bone graft for anterior cruciate ligament reconstruction? *Orthop Traumatol Surg Res.* 2019; 105(1): 89-94. doi: 10.1016/j.otsr.2018.05.014

18. Samora JB, Klinefelter RD. Flexor tendon reconstruction. *J Am Acad Orthop Surg.* 2016; 24(1): 28-36. doi: 10.5435/jaaos-d-14-00195

19. Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г., Аюшинова Н.И., Каня О.В. Фибробласты и их роль в развитии соединительной ткани. *Сибирский медицинский журнал.* 2012; 110(3): 8-12.

20. Atala A, Irvine DJ, Moses M, Shaunak S. Wound healing versus regeneration: Role of the tissue environment in regenerative medicine. *MRS Bull.* 2010; 35(8): 10.1557/mrs2010.528. doi: 10.1557/mrs2010.528

21. MacLean S, Khan WS, Malik AA, Snow M, Anand S. Tendon regeneration and repair with stem cells. *Stem Cells Int.* 2012; 2012: 316281. doi: 10.1155/2012/316281

22. Дремина Н.Н., Трухан И.С., Шурыгина И.А. Клеточные технологии в травматологии: от клетки до клеточной инженерии. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 66-76. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.8
23. Costa-Almeida R, Calejo I, Gomes ME. Mesenchymal stem cells empowering tendon regenerative therapies. *Int J Mol Sci*. 2019; 20(12): 3002. doi: 10.3390/ijms20123002
24. Calve S, Dennis RG, Kosnik PE, Baar K, Grosh K, Arruda EM. Engineering of functional tendon. *Tissue Eng*. 2004; 10(5-6): 755-761. doi: 10.1089/1076327041348464
25. Dymont NA, Hagiwara Y, Matthews BG, Li Y, Kalajzic I, Rowe DW. Lineage tracing of resident tendon progenitor cells during growth and natural healing. *PLoS One*. 2014; 9(4): 96113. doi: 10.1371/journal.pone.0096113
26. Docheva D, Hunziker EB, Fässler R, Brandau O. Tenomodulin is necessary for tenocyte proliferation and tendon maturation. *Mol Cell Biol*. 2005; 25(2): 699-705. doi: 10.1128/MCB.25.2.699-705.2005
27. Liu W, Watson SS, Lan Y, Keene DR, Ovitt CE, Liu H, et al. The atypical homeodomain transcription factor Mohawk controls tendon morphogenesis. *Mol Cell Biol*. 2010; 30(20): 4797-4807. doi: 10.1128/MCB.00207-10
28. Lejard V, Blais F, Guerin MJ, Bonnet A, Bonnin MA, Havis E, et al. EGR1 and EGR2 involvement in vertebrate tendon differentiation. *J Biol Chem*. 2011; 286(7): 5855-5867. doi: 10.1074/jbc.M110.153106
29. Mienaltowski MJ, Adams SM, Birk DE. Regional differences in stem cell/progenitor cell populations from the mouse achilles tendon. *Tissue Eng Part A*. 2013; 19(1-2): 199-210. doi: 10.1089/ten.TEA.2012.0182
30. Yao L, Bestwick CS, Bestwick LA, Maffulli N, Aspden RM. Phenotypic drift in human tenocyte culture. *Tissue Eng*. 2006; 12(7): 1843-1849. doi: 10.1089/ten.2006.12.1843
31. Lavrentieva A, Majore I, Kasper C, Hass R. Effects of hypoxic culture conditions on umbilical cord-derived human mesenchymal stem cells. *Cell Commun Signal*. 2010; 8: 18. doi: 10.1186/1478-811X-8-18
32. Sampson S, Gerhardt M, Mandelbaum B. Platelet rich plasma injection grafts for musculoskeletal injuries: A review. *Curr Rev Musculoskelet Med*. 2008; 1(3-4): 165-174. doi: 10.1007/s12178-008-9032-5
33. Шурыгин М.Г., Шурыгина И.А., Дремина Н.Н. Влияние фактора роста эндотелия сосудов на уровень коллагенообразования в процессе развития постинфарктного кардиосклероза. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2008; 78(3): 53-55.
34. Дремина Н.Н., Шурыгина И.А., Лушникова Е.Л., Непомнящих Л.М. Влияние эндотелиального фактора роста на постинфарктное моделирование миокарда крыс. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2009; 148(9): 330-336.
35. Caliarì SR, Harley BAC. Composite growth factor supplementation strategies to enhance tenocyte bioactivity in aligned collagen-GAG scaffolds. *Tissue Eng Part A*. 2013; 19(9-10): 1100-1112. doi: 10.1089/ten.TEA.2012.0497
36. Pryce BA, Watson SS, Murchison ND, Staverosky JA, Dünker N, Schweitzer R. Recruitment and maintenance of tendon progenitors by TGFβ signaling are essential for tendon formation. *Development*. 2009; 136(8): 1351-1361. doi: 10.1242/dev.027342
37. Oh JH, Chung SW, Kim SH, Chung JY, Kim JY. Neer Award: Effect of the adipose-derived stem cell for the improvement of fatty degeneration and rotator cuff healing in rabbit model. *J Shoulder Elbow Surg*. 2014; 23(4): 445-455. doi: 10.1016/j.jse.2013.07.054
38. Al-Ani MK, Xu K, Sun Y, Pan L, Xu Z, Yang L. Study of bone marrow mesenchymal and tendon-derived stem cells transplantation on the regenerating effect of Achilles tendon ruptures in rats. *Stem Cells Int*. 2015; 2015: 984146. doi: 10.1155/2015/984146
39. Ni M, Rui YF, Tan Q, Liu Y, Xu LL, Chan KM, et al. Engineered scaffold-free tendon tissue produced by tendon-derived stem cells. *Biomaterials*. 2013; 34(8): 2024-2037. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.11.046
40. Augustyniak J, Bertero A, Coccini T, Baderna D, Buzanska L, Caloni F. Organoids are promising tools for species-specific in vitro toxicological studies. *J Appl Toxicol*. 2019; 39(12): 1610-1622. doi: 10.1002/jat.3815
41. Diaz-Rodriguez P, Erndt-Marino J, Chen H, Diaz-Quiroz JF, Samavedi S, Hahn MS. A bioengineered in vitro osteoarthritis model with tunable inflammatory environments indicates context-dependent therapeutic potential of human mesenchymal stem cells. *Regenerative Engineering and Translational Medicine*. 2019; 5: 297-307.
42. Loh QL, Choong C. Three-dimensional scaffolds for tissue engineering applications: Role of porosity and pore size. *Tissue Eng Part B Rev*. 2013; 19(6): 485-502. doi: 10.1089/ten.TEB.2012.0437
43. Волкова И.М., Коровина Д.Г. Трёхмерные матрицы природного и синтетического происхождения для клеточной биотехнологии. *Биотехнология*. 2015; 31(2): 8-26.
44. Langer R, Vacanti J. Advances in tissue engineering. *J Pediatr Surg*. 2016; 51(1): 8-12. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2015.10.022
45. Zhang K, Fan Y, Dunne N, Li X. Effect of microporosity on scaffolds for bone tissue engineering. *Regen Biomater*. 2018; 5(2): 115-124. doi: 10.1093/rb/rby001
46. Quarto R, Mastrogiacomo M, Cancedda R, Kutepov SM, Mukhachev V, Lavroukov A. Repair of large bone defects with the use of autologous bone marrow stromal cells. *N Engl J Med*. 2001; 344(5): 385-386. doi: 10.1056/NEJM200102013440516
47. Marcacci M, Kon E, Moukhachev V, Lavroukov A, Kutepov S, Quarto R. Stem cells associated with macroporous bioceramics for long bone repair: 6- to 7-year outcome of a pilot clinical study. *Tissue Eng*. 2007; 13(5): 947-955. doi: 10.1089/ten.2006.0271
48. Zhang C, Zhang E, Yang L, Tu W, Lin J, Yuan C, et al. Histone deacetylase inhibitor treated cell sheet from mouse tendon stem/progenitor cells promotes tendon repair. *Biomaterials*. 2018; 172: 66-82. doi: 10.1016/j.biomaterials.2018.03.043
49. Rinoldi C, Fallahi A, Yazdi IK, Paras JC, Kijeńska-Gawrońska E, Santiago GT, et al. Mechanical and biochemical stimulation of 3D multilayered scaffolds for tendon tissue engineering. *ACS Biomater Sci Eng*. 2019; 5(6): 2953-2964. doi: 10.1021/acsbomaterials.8b01647
50. Xing F, Xiang Z, Rommens PM, Ritz U. 3D bioprinting for vascularized tissue-engineered bone fabrication. *Materials (Basel)*. 2020; 13(10): 2278. doi: 10.3390/ma13102278
51. Zhang YS, Oklu R, Dokmeci MR, Khademhosseini A. Three-dimensional bioprinting strategies for tissue engineering. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2018; 8(2): 025718. doi: 10.1101/cshperspect.a025718
52. Tarafder S, Brito JA, Minhas S, Effiong L, Thomopoulos S, Lee CH. In situ tissue engineering of the tendon-to-bone interface by endogenous stem/progenitor cells. *Biofabrication*. 2019; 12(1): 015008. doi: 10.1088/1758-5090/ab48ca
53. Marques CF, Diogo GS, Pina S, Oliveira JM, Silva TH, Reis RL. Collagen-based bioinks for hard tissue engineering applications: A comprehensive review. *J Mater Sci Mater Med*. 2019; 30(3): 32. doi: 10.1007/s10856-019-6234-x
54. Li J, Chen M, Fan X, Zhou H. Recent advances in bioprinting techniques: Approaches, applications and future prospects. *J Transl Med*. 2016; 14: 271. doi: 10.1186/s12967-016-1028-0
55. Xu C, Chai W, Huang Y, Markwald RR. Scaffold-free inkjet printing of three-dimensional zigzag cellular tubes. *Biotechnol Bioeng*. 2012; 109(12): 3152-3160. doi: 10.1002/bit.24591
56. Lee VK, Lanzi AM, Haygan N, Yoo SS, Vincent PA, Dai G. Generation of multi-scale vascular network system within 3D hydrogel using 3D bio-printing technology. *Cell Mol Bioeng*. 2014; 7(3): 460-472. doi: 10.1007/s12195-014-0340-0
57. Keriquel V, Guillemot F, Arnault I, Guillotin B, Miraux S, Amédée J, et al. In vivo bioprinting for computer- and robotic-assisted medical intervention: Preliminary study in mice. *Biofabrication*. 2010; 2(1): 014101. doi: 10.1088/1758-5082/2/1/014101
58. Boyette LB, Creasey OA, Guzik L, Lozito T, Tuan RS. Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells display enhanced clonogenicity but impaired differentiation with hypoxic preconditioning. *Stem Cells Transl Med*. 2014; 3(2): 241-254. doi: 10.5966/sctm.2013-0079

59. Norotte C, Marga FS, Niklason LE, Forgacs G. Scaffold-free vascular tissue engineering using bioprinting. *Biomaterials*. 2009; 30(30): 5910-5917. doi: 10.1016/j.biomaterials.2009.06.034

60. Matai I, Kaur G, Seyedsalehi A, McClinton A, Laurencin CT. Progress in 3D bioprinting technology for tissue/organ regenerative engineering. *Biomaterials*. 2020; 226: 119536. doi: 10.1016/j.biomaterials.2019.119536

61. Snedeker JG, Foolen J. Tendon injury and repair – A perspective on the basic mechanisms of tendon disease and future clinical therapy. *Acta Biomater*. 2017; 63: 18-36. doi: 10.1016/j.actbio.2017.08.032

62. Leong NL, Kator JL, Clemens TL, James A, Enamoto-Iwamoto M, Jiang J. Tendon and ligament healing and current approaches to tendon and ligament regeneration. *J Orthop Res*. 2020; 38(1): 7-12. doi: 10.1002/jor.24475

63. Lui PP. Identity of tendon stem cells – how much do we know? *J Cell Mol Med*. 2013; 17(1): 55-64. doi: 10.1111/jcmm.12007

64. Qu SW, Xue YN, Li P, Zhou JD. Advances in the research of stem cell tissue-engineering. *Zhonghua Shao Shang Za Zhi*. 2020; 36(6): 510-515. doi: 10.3760/cma.j.cn501120-20190225-00039

REFERENCES

1. Walia B, Huang AH. Tendon stem progenitor cells: Understanding the biology to inform therapeutic strategies for tendon repair. *J Orthop Res*. 2019; 37(6): 1270-1280. doi: 10.1002/jor.24156

2. Andarawis-Puri N, Flatow EL, Soslowsky LJ. Tendon basic science: Development, repair, regeneration, and healing. *J Orthop Res*. 2015; 33(6): 780-784. doi: 10.1002/jor.22869

3. Schneider M, Angele P, Järvinen TAH, Docheva D. Rescue plan for Achilles: Therapeutics steering the fate and functions of stem cells in tendon wound healing. *Adv Drug Deliv Rev*. 2018; 129: 352-375. doi: 10.1016/j.addr.2017.12.016

4. Ponomarenko NS, Kuklin IA, Monastyr VV, Mihajlov IN, Rudakov AN, Bubnov AS, et al. Comparison of the results of surgical treatment of patients with calcaneal tendon injury in Myerson grade II and III diastasis using the plantar muscle tendon. *Acta biomechanica scientifica*. 2018; 3(3): 170-175. doi: 10.29413/ABS.2018-3.3.32. (In Russ.)

5. D'Addona A, Maffulli N, Formisano S, Rosa D. Inflammation in tendinopathy. *Surgeon*. 2017; 15(5): 297-302. doi: 10.1016/j.surge.2017.04.004

6. Ackerman JE, Studentsova V, Myers M, Buckley MR, Richards MS, Loiselle AE. Non-invasive ultrasound quantification of scar tissue volume identifies early functional changes during tendon healing. *J Orthop Res*. 2019; 37(11): 2476-2485. doi: 10.1002/jor.24397

7. Howell K, Chien C, Bell R, Laudier D, Tufa SF, Keene DR, et al. Novel model of tendon regeneration reveals distinct cell mechanisms underlying regenerative and fibrotic tendon healing. *Sci Rep*. 2017; 23(7): 45238. doi: 10.1038/srep45238

8. Santos AL, Silva CG, Barretto LSS, Franciozi CES, Tamaoki MJS, Almeida FG, et al. Biomechanical evaluation of tendon regeneration with adipose-derived stem cell. *J Orthop Res*. 2019; 37(6): 1281-1286. doi: 10.1002/jor.24182

9. Bonnin M, Lustig S, Hutten D. Extensor tendon ruptures after total knee arthroplasty. *Orthop Traumatol Surg Res*. 2016; 102(1): 21-31. doi: 10.1016/j.otsr.2015.06.025

10. Leonova SN, Monastyr VV, Ponomarenko NS. Using a new approach to arthroscopic autoplasty of the anterior cruciate ligament in its traumatic injury. *Politravma*. 2019; 4: 52-57. (In Russ.)

11. Condello V, Zdanowicz U, Matteo BD, Spalding T, Gelber PE, Adravanti P, et al. Allograft tendons are a safe and effective option for revision ACL reconstruction: A clinical review. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2019; 27(6): 1771-1781. doi: 10.1007/s00167-018-5147-4

12. Gillespie RJ, Knapik DM, Akkus O. Biologic and synthetic grafts in the reconstruction of large to massive rotator cuff tears. *J Am Acad Orthop Surg*. 2016; 24(12): 823-828. doi: 10.5435/JAOS-D-15-00229

13. Iannotti JP, Codsi MJ, Kwon YW, Derwin K, Ciccone J, Brems JJ. Porcine small intestine submucosa augmentation of sur-

gical repair of chronic two-tendon rotator cuff tears. A randomized, controlled trial. *J Bone Joint Surg Am*. 2006; 88(6): 1238-1244. doi: 10.2106/JBJS.E.00524

14. Gupta AK, Hug K, Berkoff DJ, Boggess BR, Gavigan M, Malley PC, et al. Dermal tissue allograft for the repair of massive irreparable rotator cuff tears. *Am J Sports Med*. 2012; 40(1): 141-147. doi: 10.1177/0363546511422795

15. Smith PA, Stannard JP, Bozynski CC, Kuroki K, Cook CR, Cook JL. Patellar bone-tendon-bone autografts versus quadriceps tendon allograft with synthetic augmentation in a canine model. *J Knee Surg*. 2020; 33(12): 1256-1266. doi: 10.1055/s-0039-1695040

16. Galatz LM, Gerstenfeld L, Heber-Katz E, Rodeo SA. Tendon regeneration and scar formation: The concept of scarless healing. *J Orthop Res*. 2015; 33(6): 823-831. doi: 10.1002/jor.22853

17. Thauinat M, Fayard JM, Sonnery-Cottet B. Hamstring tendons or bone-patellar tendon-bone graft for anterior cruciate ligament reconstruction? *Orthop Traumatol Surg Res*. 2019; 105(1): 89-94. doi: 10.1016/j.otsr.2018.05.014

18. Samora JB, Klinefelter RD. Flexor tendon reconstruction. *J Am Acad Orthop Surg*. 2016; 24(1): 28-36. doi: 10.5435/jaaos-d-14-00195

19. Shurygina IA, Shurygin MG, Ayushinova NI, Kanya OV. Fibroblasts and their role in connective tissue development. *Sibirskij medicinskij zhurnal*. 2012; 110(3): 8-12. (In Russ.)

20. Atala A, Irvine DJ, Moses M, Shaunak S. Wound healing versus regeneration: Role of the tissue environment in regenerative medicine. *MRS Bull*. 2010; 35(8): 10.1557/mrs2010.528. doi: 10.1557/mrs2010.528

21. MacLean S, Khan WS, Malik AA, Snow M, Anand S. Tendon regeneration and repair with stem cells. *Stem Cells Int*. 2012; 2012: 316281. doi: 10.1155/2012/316281

22. Dremina NN, Trukhan IS, Shurygina IA. Cellular technologies in traumatology: From the cell to cellular engineering. *Acta biomechanica scientifica*. 2020; 5(6): 66-76. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.8. (In Russ.)

23. Costa-Almeida R, Calejo I, Gomes ME. Mesenchymal stem cells empowering tendon regenerative therapies. *Int J Mol Sci*. 2019; 20(12): 3002. doi: 10.3390/ijms20123002

24. Calve S, Dennis RG, Kosnik PE, Baar K, Grosh K, Arruda EM. Engineering of functional tendon. *Tissue Eng*. 2004; 10(5-6): 755-761. doi: 10.1089/1076327041348464

25. Dymant NA, Hagiwara Y, Matthews BG, Li Y, Kalajic I, Rowe DW. Lineage tracing of resident tendon progenitor cells during growth and natural healing. *PLoS One*. 2014; 9(4): 96113. doi: 10.1371/journal.pone.0096113

26. Docheva D, Hunziker EB, Fässler R, Brandau O. Tenomodulin is necessary for tenocyte proliferation and tendon maturation. *Mol Cell Biol*. 2005; 25(2): 699-705. doi: 10.1128/MCB.25.2.699-705.2005

27. Liu W, Watson SS, Lan Y, Keene DR, Ovitt CE, Liu H, et al. The atypical homeodomain transcription factor Mohawk controls tendon morphogenesis. *Mol Cell Biol*. 2010; 30(20): 4797-4807. doi: 10.1128/MCB.00207-10

28. Lejard V, Blais F, Guerin MJ, Bonnet A, Bonnin MA, Havis E, et al. EGR1 and EGR2 involvement in vertebrate tendon differentiation. *J Biol Chem*. 2011; 286(7): 5855-5867. doi: 10.1074/jbc.M110.153106

29. Mienaltowski MJ, Adams SM, Birk DE. Regional differences in stem cell/progenitor cell populations from the mouse achilles tendon. *Tissue Eng Part A*. 2013; 19(1-2): 199-210. doi: 10.1089/ten.TEA.2012.0182

30. Yao L, Bestwick CS, Bestwick LA, Maffulli N, Aspden RM. Phenotypic drift in human tenocyte culture. *Tissue Eng*. 2006; 12(7): 1843-1849. doi: 10.1089/ten.2006.12.1843

31. Lavrentieva A, Majore I, Kasper C, Hass R. Effects of hypoxic culture conditions on umbilical cord-derived human mesenchymal stem cells. *Cell Commun Signal*. 2010; 8: 18. doi: 10.1186/1478-811X-8-18

32. Sampson S, Gerhardt M, Mandelbaum B. Platelet rich plasma injection grafts for musculoskeletal injuries: A review.

Curr Rev Musculoskelet Med. 2008; 1(3-4): 165-174. doi: 10.1007/s12178-008-9032-5

33. Shurygin MG, Shurygina IA, Dremina NN. Effect of vascular endothelial growth factor on the level of collagen formation in the course of postinfarction cardiosclerosis. *Sibirskij medicinskij zhurnal (Irkutsk)*. 2008; 78(3): 53-55. (In Russ.)

34. Dremina NN, Surygina IA, Lushnikova EL, Nepomnyashchih LM. Effect of endothelial growth factor on postinfarction modeling of rat myocardium. *Byulleten' eksperimental'noj biologii i mediciny*. 2009; 148(9): 330-336. (In Russ.)

35. Caliar SR, Harley BAC. Composite growth factor supplementation strategies to enhance tenocyte bioactivity in aligned collagen-GAG scaffolds. *Tissue Eng Part A*. 2013; 19(9-10): 1100-1112. doi: 10.1089/ten.TEA.2012.0497

36. Pryce BA, Watson SS, Murchison ND, Staverosky JA, Dünker N, Schweitzer R. Recruitment and maintenance of tendon progenitors by TGFbeta signaling are essential for tendon formation. *Development*. 2009; 136(8): 1351-1361. doi: 10.1242/dev.027342

37. Oh JH, Chung SW, Kim SH, Chung JY, Kim JY. Neer Award: Effect of the adipose-derived stem cell for the improvement of fatty degeneration and rotator cuff healing in rabbit model. *J Shoulder Elbow Surg*. 2014; 23(4): 445-455. doi: 10.1016/j.jse.2013.07.054

38. Al-Ani MK, Xu K, Sun Y, Pan L, Xu Z, Yang L. Study of bone marrow mesenchymal and tendon-derived stem cells transplantation on the regenerating effect of Achilles tendon ruptures in rats. *Stem Cells Int*. 2015; 2015: 984146. doi: 10.1155/2015/984146

39. Ni M, Rui YF, Tan Q, Liu Y, Xu LL, Chan KM, et al. Engineered scaffold-free tendon tissue produced by tendon-derived stem cells. *Biomaterials*. 2013; 34(8): 2024-2037. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.11.046

40. Augustyniak J, Bertero A, Coccini T, Baderna D, Buzanska L, Caloni F. Organoids are promising tools for species-specific in vitro toxicological studies. *J Appl Toxicol*. 2019; 39(12): 1610-1622. doi: 10.1002/jat.3815

41. Diaz-Rodriguez P, Erndt-Marino J, Chen H, Diaz-Quiroz JF, Samavedi S, Hahn MS. A bioengineered in vitro osteoarthritis model with tunable inflammatory environments indicates context-dependent therapeutic potential of human mesenchymal stem cells. *Regenerative Engineering and Translational Medicine*. 2019; 5: 297-307.

42. Loh QL, Choong C. Three-dimensional scaffolds for tissue engineering applications: Role of porosity and pore size. *Tissue Eng Part B Rev*. 2013; 19(6): 485-502. doi: 10.1089/ten.TEB.2012.0437

43. Volkova IM, Korovina DG. Three-dimensional matrices of natural and synthetic origin for cell biotechnology. *Biotehnologiya*. 2015; 31(2): 8-26. (In Russ.)

44. Langer R, Vacanti J. Advances in tissue engineering. *J Pediatr Surg*. 2016; 51(1): 8-12. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2015.10.022

45. Zhang K, Fan Y, Dunne N, Li X. Effect of microporosity on scaffolds for bone tissue engineering. *Regen Biomater*. 2018; 5(2): 115-124. doi: 10.1093/rb/rby001

46. Quarto R, Mastrogiacomo M, Cancedda R, Kutepov SM, Mukhachev V, Lavroukov A. Repair of large bone defects with the use of autologous bone marrow stromal cells. *N Engl J Med*. 2001; 344(5): 385-386. doi: 10.1056/NEJM200102013440516

47. Marcacci M, Kon E, Moukachev V, Lavroukov A, Kutepov S, Quarto R. Stem cells associated with macroporous bio-ceramics for long bone repair: 6- to 7-year outcome of a pilot clinical study. *Tissue Eng*. 2007; 13(5): 947-955. doi: 10.1089/ten.2006.0271

48. Zhang C, Zhang E, Yang L, Tu W, Lin J, Yuan C, et al. Histone deacetylase inhibitor treated cell sheet from mouse tendon stem/progenitor cells promotes tendon repair. *Biomaterials*. 2018; 172: 66-82. doi: 10.1016/j.biomaterials.2018.03.043

49. Rinoldi C, Fallahi A, Yazdi IK, Paras JC, Kijeńska-Gawrońska E, Santiago GT, et al. Mechanical and biochemical stimulation of 3D multilayered scaffolds for tendon tissue engineering. *ACS Biomater Sci Eng*. 2019; 5(6): 2953-2964. doi: 10.1021/acsbmaterials.8b01647

50. Xing F, Xiang Z, Rommens PM, Ritz U. 3D bioprinting for vascularized tissue-engineered bone fabrication. *Materials (Basel)*. 2020; 13(10): 2278. doi: 10.3390/ma13102278

51. Zhang YS, Oklu R, Dokmeci MR, Khademhosseini A. Three-dimensional bioprinting strategies for tissue engineering. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2018; 8(2): 025718. doi: 10.1101/cshperspect.a025718

52. Tarafder S, Brito JA, Minhas S, Effiong L, Thomopoulos S, Lee CH. In situ tissue engineering of the tendon-to-bone interface by endogenous stem/progenitor cells. *Biofabrication*. 2019; 12(1): 015008. doi: 10.1088/1758-5090/ab48ca

53. Marques CF, Diogo GS, Pina S, Oliveira JM, Silva TH, Reis RL. Collagen-based bioinks for hard tissue engineering applications: A comprehensive review. *J Mater Sci Mater Med*. 2019; 30(3): 32. doi: 10.1007/s10856-019-6234-x

54. Li J, Chen M, Fan X, Zhou H. Recent advances in bioprinting techniques: Approaches, applications and future prospects. *J Transl Med*. 2016; 14: 271. doi: 10.1186/s12967-016-1028-0

55. Xu C, Chai W, Huang Y, Markwald RR. Scaffold-free inkjet printing of three-dimensional zigzag cellular tubes. *Biotechnol Bioeng*. 2012; 109(12): 3152-3160. doi: 10.1002/bit.24591

56. Lee VK, Lanzi AM, Haygan N, Yoo SS, Vincent PA, Dai G. Generation of multi-scale vascular network system within 3D hydrogel using 3D bio-printing technology. *Cell Mol Bioeng*. 2014; 7(3): 460-472. doi: 10.1007/s12195-014-0340-0

57. Keriquel V, Guillemot F, Arnault I, Guillotin B, Miraux S, Amédée J, et al. In vivo bioprinting for computer- and robotic-assisted medical intervention: Preliminary study in mice. *Biofabrication*. 2010; 2(1): 014101. doi: 10.1088/1758-5082/2/1/014101

58. Boyette LB, Creasey OA, Guzik L, Lozito T, Tuan RS. Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells display enhanced clonogenicity but impaired differentiation with hypoxic preconditioning. *Stem Cells Transl Med*. 2014; 3(2): 241-254. doi: 10.5966/sctm.2013-0079

59. Norotte C, Marga FS, Niklason LE, Forgacs G. Scaffold-free vascular tissue engineering using bioprinting. *Biomaterials*. 2009; 30(30): 5910-5917. doi: 10.1016/j.biomaterials.2009.06.034

60. Matai I, Kaur G, Seyedsalehi A, McClinton A, Laurencin CT. Progress in 3D bioprinting technology for tissue/organ regenerative engineering. *Biomaterials*. 2020; 226: 119536. doi: 10.1016/j.biomaterials.2019.119536

61. Snedeker JG, Foolen J. Tendon injury and repair – A perspective on the basic mechanisms of tendon disease and future clinical therapy. *Acta Biomater*. 2017; 63: 18-36. doi: 10.1016/j.actbio.2017.08.032

62. Leong NL, Kator JL, Clemens TL, James A, Enamoto-Iwamoto M, Jiang J. Tendon and ligament healing and current approaches to tendon and ligament regeneration. *J Orthop Res*. 2020; 38(1): 7-12. doi: 10.1002/jor.24475

63. Lui PP. Identity of tendon stem cells – how much do we know? *J Cell Mol Med*. 2013; 17(1): 55-64. doi: 10.1111/jcmm.12007

64. Qu SW, Xue YN, Li P, Zhou JD. Advances in the research of stem cell tissue-engineering. *Zhonghua Shao Shang Za Zhi*. 2020; 36(6): 510-515. doi: 10.3760/cma.j.cn501120-20190225-00039

ПРИНЯТЫЕ СОКРАЩЕНИЯ

MCK – мезенхимальные стволовые клетки
 BMP – костный морфогенетический белок суперсемейства TGF
 CD133 – трансмембранный гликопротеин, маркер раковых стволовых клеток, кластер дифференцировки 133
 CD44 – гликопротеин клеточной поверхности, кластер дифференцировки 44
 CD90 – кластер дифференцировки 90
 COL1α1 – альфа-1 коллаген типа I
 CTGF – фактор роста соединительной ткани
 EGR1 (ZNF268, NGFI-A) – ядерный белок, фактор транскрипции в формировании памяти
 EGR2 (CHN1, AT591, CMT1D, CMT4E, KROX20) – белок раннего ответа роста 2, фактор транскрипции
 EMCN (эндомуцин) – муциноподобный сиалогликопротеин, маркер эндотелиальных и гемопоэтических стволовых клеток
 FGFb – основной фактор роста фибробластов
 HGF – фактор роста гепатоцитов

IGF1 – инсулиноподобный фактор роста-1
МКХ (Mohawk) – фактор транскрипции, регулирующий дифференцировку
MSI-1 (Musashi-1) – РНК-связывающий белок, маркер стволовых клеток, контролирующий баланс между самообновлением и терминальной дифференцировкой
NES (nestin) – белковый маркер нервных стволовых клеток

PDGFBB – тромбоцитарный фактор роста BB
SCA-1 – маркер гемопоэтических стволовых клеток
SCX (Scleraxis) – белок суперсемейства факторов транскрипции helix-loop-helix (bHLH)
TGFβ – трансформирующий фактор роста β
TNMD (Теномодулин) – трансмембранный гликопротеин II типа
VEGF – фактор роста эндотелия сосудов

Сведения об авторах

Дремина Наталья Николаевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий и регенеративной медицины, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: drema76@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2540-4525>

Трухан Ирина Сергеевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий и регенеративной медицины, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: predel4@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0270-404X>

Шурыгина Ирина Александровна – доктор медицинских наук, заместитель директора по научной работе, профессор РАН, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: irinashurygina@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3980-050X>

Information about the authors

Natalya N. Dremina – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Cell Technologies and Regenerative Medicine, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: drema76@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2540-4525>

Irina S. Trukhan – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Cell Technologies and Regenerative Medicine, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: predel4@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0270-404X>

Irina A. Shurygina – Dr. Sc. (Med.), Professor of the Russian Academy of Sciences, Deputy Director for Science, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: irinashurygina@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3980-050X>

Статья поступила: 22.01.2021. Статья принята: 15.04.2021. Статья опубликована: 15.06.2021.

Received: 22.01.2021. Accepted: 15.04.2021. Published: 15.06.2021.