

СОВРЕМЕННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТЕВЛОВЫХ КЛЕТОК В ТРАВМАТОЛОГИИ И ОРТОПЕДИИ

О.А. ГАНИЕВ, Э.Ю. ВАЛИЕВ, Б.Р. КАРИМОВ, Ш.Х. АЗИЗОВ

Республиканский научный центр экстренной медицинской помощи, Ташкент, Узбекистан

MODERN POSSIBILITIES OF USING MESENCHYMAL STEM CELLS IN TRAUMATOLOGY AND ORTHOPEDICS

O.A. GANIYEV, E.YU. VALIYEV, B.R. KARIMOV, SH.KH. AZIZOV

Republican research centre of emergency medicine, Tashkent, Uzbekistan

Тяжёлые травмы опорно-двигательного аппарата с повреждением костной и хрящевой тканей сопряжены с необходимостью поиска способов замещения дефектов. Современные способы лечения, в том числе включающие применение современных синтетических материалов, аутотрансплантатов, часто недостаточно эффективны. Статья посвящена применению клеточных технологий в лечении травматологической патологии. Особое место уделено применению мезенхимальных стволовых клеток как наиболее подходящего материала для репарации костной и хрящевой тканей. Показано, что количество и биологические характеристики выделяемых клеток зависят от ткани, метода выделения клеток и питательной среды. Несмотря на этические и технологические проблемы, клеточные технологии являются перспективным методом регенеративной медицины.

Ключевые слова: травматология, кость, хрящ, клеточные технологии, мезенхимальные стволовые клетки, репарация.

Corresponding author: Ganiyev Olimjon Atkhamovich, e-mail: safdil007@gmail.com

Current methods of treatment including the usage of autografts and modern synthetic materials are often not effective enough. The article deals with the prospects for developing the new areas in the traumatological pathology treatment based on the cell technologies application. Special attention is devoted to application of the mesenchymal stem cells as the most suitable material for bone and cartilage repair. It is shown that the number and biological characteristics of the isolated cells depend on the tissue, the cell isolation method, and the culture medium. Mesenchymal stem cells represent a current material for the reconstruction of tissues. Despite ethical and technological problems, cell technologies are a promising approach in regenerative medicine.

Keywords: traumatology, bone, cartilage, cell technologies, mesenchymal stem cells, reparation.

10.54185/TBEM/vol15_iss6/a14

Введение

Клеточные технологии (КТ) – одна из самых динамично развивающихся научных отраслей XXI века. Для восстановления, поддержания, улучшения формы и функции тканей или органов практически во всех отраслях медицины применяются клеточные технологии [1]. Прежде всего при ожогах, скальпированных и долго не заживающих ранах для замещения повреждённых участков кожи имплантируются ткани, выращенные in vitro [2, 3], в том числе в онкологии и гематологии [4, 5, 6], сердечно-сосудистых заболеваниях [7, 8, 9], различных нейродегенеративных расстройствах, а также при травмах головного и спинного мозга, которые ранее считались неизлечимыми [10]. Нейротрансплантация применяется при лечении болезней Хантингтона, Паркинсона, Альцгеймера, [11], офтальмологии [12], стоматологии [13], в эндокринологии для лечения сахарного диабета применяют трансплантаты островковых клеток поджелудочной железы [14]. При различных формах печёночной недоста-

точности используются донорские изолированные гепатоциты [15, 16].

Несмотря на множественные медицинские технологии, применяемые в травматологической области по стимуляции репаративной регенерации тканей, вопрос полного и быстрого восстановления костной, хрящевой тканей на сегодня остается открытым. В последние годы актуальным является изучение влияния стволовых клеток (СК) на процессы регенерации тканей [17, 18].

Биоэтические аспекты применения клеточных технологий

Биоэтика – это наука, решающая правовые и морально-этические проблемы, приоритетом которой считаются интересы пациента и общества, а не интересы науки. До сих пор остаётся открытым вопрос – является ли этическим использование эмбриональных и фетальных стволовых клеток, имеем ли мы на это право? Во многих странах за-

родыш считается потенциальным человеком, а разрушение эмбриона приравнивается к убийству [19, 20, 21]. Создавать эмбрионы в научных целях в международных документах, к которым относятся «Всеобщая декларация прав человека», «Международный пакт о гражданских и политических правах», «Европейская конвенция по защите прав и достоинств человека» запрещается.

По данным Petrini С., малоизвестные клиники гарантируют благоприятный исход лечения практически при любой патологии. Рекламируют и умалчивают о побочных эффектах стволовых клеток, приписывая им несуществующие свойства, подвергая пациента опасности [22, 23].

Мнения по некоторым этическим вопросам в последнее время

При лечении патологий существуют четыре условия, имеющие некоторые негативные последствия и являющиеся морально приемлемыми при соблюдении:

- Главная цель действия и само действие – это благо.
- Вредные последствия происходят не намеренно.
- Вредное воздействие не является целью действия, а хорошее воздействие не является прямым причинно-следственным результатом вредного воздействия.
- Предполагаемый положительный эффект так же велик, как и побочные эффекты, или больше, или пропорционален им.

Несмотря на это, КТ признаны перспективным направлением современной медицины. По данным Aulisio M.P., большинство этических проблем будет решено благодаря масштабной помощи с использованием КТ людям, по сравнению с традиционным методом лечения [24].

Среди всех сфер травматология является одним из ключевых направлений медицины, так как болезни опорно-двигательного аппарата поражают ~50% людей старше 18 лет и ~75% людей в возрасте ≥ 65 лет. Клеточную инженерию в травматологии формально можно разделить на инженерию костей, хрящей и сухожилий суставов [25].

Мезенхимальные стволовые клетки костного мозга (МСККМ) и мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани (МСКЖТ) полипотентны, т.е. в зависимости от условий микроокружения *in vitro* и *in vivo* способны дифференцироваться по фибробластическому, остеобластическому, хондроцитарному и адипоцитарному направлениям [26]. Кроме того, выделение и пересадка жирового трансплантата на сегодняшний день стала весьма безопасной [27]. На сегодняшний день определены индукторы, влияющих на дифференцировку стволовой клетки в остальные ткани, стало бесценным опытом. В нижеприведенной таблице показаны индукторы, влияющие на дифференцировку клеток [28, 29, 30, 31, 32].

Рассматривая остеогенную дифференцировку МСКЖТ и МСККМ, следует отметить, что МСККМ обладают намного лучшими характеристиками в создании костного матрикса для будущего клинического применения [17, 33].

Клеточные технологии в инженерии костной ткани

Большинство доступных костных заменителей обладает остеокондуктивными свойствами, ещё ни один из них не сочетает в себе все преимущества собственной кости. Для развития в направлении новых остеоиндуктивных и остеогенных решений, которые смогут безопасно и эффективно конкурировать с существующими стандартами, предложена клеточная терапия. Именно применение стволовых клеток играет одну из основных ролей в восстановлении костной ткани и может служить альтернативой костной пластике [34].

Осознав большую перспективу использования клеточных технологий в травматологии, исследователи старались

получить культуры клеток непосредственно из тканей, которые необходимо восстановить.

Для получения первичной культуры остеобластов на начальном этапе использовали периост (надкостницу) или эмбриональные закладки костей, однако полученная популяция дифференцировалась по хондрогенному пути [26]. Культивирование непосредственно костных фрагментов позволило получить небольшое количество остеогенных клеток. И только спустя годы в качестве источника были применены стволовые клетки костного мозга, преимуществом которых явилась способность адгезироваться к поверхности культуральной посуды. А усовершенствование питательной среды и создание оптимальных условий микроокружения позволило получать достаточный объём дифференцированных клеток из малого количества исходного материала [38].

Стволовые клетки как источник регенерации костной и хрящевой ткани

СК – это клетки с низкой степенью дифференцировки, которые способны неограниченно делиться и превращаться в специализированные типы клеток под действием различных стимулов [36].

Для индуцирования репарации костей, хряща и сухожилий наиболее подходящими клетками в настоящее время считаются мезенхимальные стволовые клетки костного мозга, поскольку они обладают высоким остеогенным, хондрогенным и теногенным потенциалом [37, 38].

По происхождению стволовые клетки можно разделить на три основные группы: эмбриональные стволовые клетки (ЭСК), в которых отсутствуют антигены тканевой совместимости; взрослые стволовые клетки (также называемые тканеспецифическими стволовыми клетками, ТСК) и индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК).

Стволовые клетки костного мозга впервые идентифицированы Александром Яковлевичем Фриденштейном, описавшем адгезивную фибробластоподобную популяцию, способную дифференцироваться в костную ткань, которую он назвал остеогенными клетками-предшественниками [49].

Позднее, благодаря Арнольду Каплану (Arnold Caplan), стромальные стволовые клетки костного мозга названы мезенхимальными стволовыми клетками – МСК [40], которые в настоящее время представляют наибольший интерес, так как обладают свойством мультипотентных стволовых клеток, способных дифференцироваться в различные клетки, включая фибробласты, хондробласты, остеобласты, адипоциты, гепатоциты, глиальные клетки и нейроны, а также имеют способность мигрировать в повреждённый участок [1, 41, 42, 63]. Мультипотентные стволовые клетки (ММСК), полученные из различных типов тканей, также имеют разный потенциал дифференциации. Так, исследование Sakaguchi с соавторами по сравнению свойств ММСК, выделенных из костного мозга, синовиальной оболочки, надкостницы, скелетных мышц и жировой ткани, продемонстрировало существенные различия в потенциалах дифференциации клеток. Высоким потенциалом дифференциации в остеогенном направлении обладают производные костного мозга, синовиальной оболочки и надкостницы. Однако ММСК из синовиальной оболочки проявляли самый высокий потенциал в хондрогенном направлении [43, 44]. Кроме того, МСК действуют как иммуносупрессоры, т.е. обладают иммуномодулирующим свойством, благодаря которому они подавляют пролиферацию Т-лимфоцитов и угнетают дифференцировку дендритных клеток, что позволяет достаточно широко использовать их в трансплантологии [45].

Таблица. Индукторы, влияющие на дифференцировку мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани в разные ткани

Автор	Фенотип	Дифференцировка	Факторы, индуцирующие дифференцировку
Gronthos S. et al. (2001)	Позитивны по: HLAABC, CD9, CD10, CD13, CD29, CD34, CD44, CD59, CD105, CD49e, CD54, CD55, CD166 Негативны по: HLADR, CD11a, CD11b, CD11c, CD14, CD18, CD31, CD45, CD50, CD56	In vitro: остеогенная; адипогенная.	Остеогенные: витамин D ₃ ; дексаметазон. Адипогенные: инсулин, дексаметазон; 1-метил-3-изобутилксантин; BRL49653.
Zuk P.A. et al. (2001)	Позитивны по: CD13, CD29, CD44, CD49d, CD71, CD90, CD105, SH3, STRO1 Негативны по: CD31, CD34, CD45, CD14, CD16, CD56, CD61, CD62E, CD104, CD106	In vitro: остеогенная; хондрогенная; миогенная; нейрогенная.	Остеогенные: витамин D ₃ ; аскорбат; В-глицерофосфат. Хондрогенные: инсулин, TGFβ1; аскорбат. Миогенные: мыворотка КРС и человека; гидрокортизон. Нейрогенные: β-меркаптоэтанол.
Brzoska M. et al. (2005)	Позитивны по: CD10, CD13, CD44, CD90 виментин Негативны по: CD31, CD34, CD45, vWF	In vitro: эпителиальная.	Эпителиальные: ретиноевая кислота.
Cao Y. et al. (2005)	Позитивны по: CD29, CD44, CD105, CD166, Flk1, HLAABC Негативны по: CD31, CD34, CD45, CD106, CD184	In vitro: остеогенная; адипогенная. In vitro, in vivo: эндотелиальная.	Остеогенные: аскорбат; β-глицерофосфат; дексаметазон; сыворотка / Serum. Адипогенные: гидрокортизон; 1-метил-3-изобутил ксантин; индометацин. Эндотелиальные: VEGF, bFGF, EST.
Astori G. et al. (2007)	Позитивны по: CD13, CD29, CD44, CD73, CD90, CD105, CD166 Негативны: CD34, CD38, CD45, CD133, CD31, CD271	In vitro: остеогенная; адипогенная; хондрогенная.	Остеогенные: аскорбат; β-глицерофосфат; дексаметазон; Адипогенные: инсулин; дексаметазон; 1-метил-3-изобутилксантин; индометацин. Хондрогенные: TGFβ3, аскорбат; дексаметазон; пируват.

В клеточных технологиях существуют определённые этапы, включающие:

- 1) выделение и культивирование первичных культур клеток;
- 2) получение клеточных линий и создание клеточных банков;

3) модификацию структуры и функции клеток, цитокиновую терапию и генотерапию;

4) практическое применение в медицине, биологии, биоинженерии, био-, нанотехнологии.

Сегодня стволовые клетки получают практически из любой ткани: из костной ткани, жировой и хрящевой тка-

ни, кожи, плаценты, периферической и пуповинной крови, амниотической и синовиальной жидкости, трабекулярной кости, стенок сосудов, предстательной железы, а также фетальных печени и лёгких [35, 46, 47]. Однако, несмотря на лёгкость выделения, культивирования и стабильность фенотипа, количество выделяемых клеток и биологические характеристики первичной культуры МСК напрямую зависят от источника ткани, метода выделения клеток и питательной среды [48]. Несмотря на то, что источником МСК могут быть различные ткани, чаще всего клетки выделяют из жировой и пуповинной тканей. Именно из этих тканей получают наибольшее количество МСК, а процедура при этом является минимально инвазивной [49].

Начальный этап извлечения МСК из донорской ткани определяет дальнейшую популяцию клеток, которая будет размножаться *in vitro*. Как правило, клетки выделяют с помощью простых процедур, включающих измельчение тканей, ферментирование и рост клеток на пластиковой поверхности [48].

Результат получения МСК зависит от донора материала. Например, клетки, полученные от больных гепатитом В, сначала были похожи на клетки здоровых доноров, но впоследствии наблюдались явные различия в соотношении культур, кривой роста, количестве поколений и изменении внешнего вида после нескольких субкультивирований, свидетельствующие о том, что их труднее культивировать *in vitro*. Растут такие клетки медленно, с быстрым процессом старения [50]. В то же время МСК, полученные из костного мозга у женщин с множественной травмой, имели высокую пролиферативную способность, в сравнении с остальными донорами. Это свидетельствует о том, что тяжесть травмы и пол также влияют на резервный и пролиферативный потенциал. А МСК от пожилых доноров демонстрировали снижение максимальной продолжительности жизни клеточной культуры по сравнению с клетками от молодых доноров, о чем свидетельствовало увеличение количества бета-галактозидных позитивных клеток [51].

Для успешной дифференцировки особое значение имеют питательная среда и наличие в ней растворенных веществ. Например, для остеогенной дифференцировки в питательную среду, дополненную 20%-й фетальной бычьей сывороткой (FBS), необходимо добавить дексаметазон, В-глицерофосфат, фосфат витамина С и культивировать МСК в монослойной среде 2–3 недели. Затем клетки приобретают костную морфологию, повышается активность щелочной фосфатазы (ЩФ) с накоплением кальция во внеклеточном матриксе. При добавлении в питательную среду основного фактора роста фибробластов (fibroblast growth factor basic, FGFb) повышаются остеогенный и адипогенный потенциалы, в то время как способность к нейрогенной трансформации снижается [25].

Техника культивирования в клеточной инженерии

На клеточный потенциал влияет техника культивирования. При наиболее распространённом и экономичном однослойном культивировании остеогенный потенциал снижается, о чем свидетельствует понижение как активности ЩФ, так и содержание остеокальцина, и при этом невозможно создать микроокружение для клетки, идентичное условиям *in vivo*. При однослойном культивировании хондроциты быстро становятся фибробластоподобными клетками со сниженной способностью продуцировать протеогликаны, изменяется структура синтезируемого коллагена (вместо коллагена II типа синтезируется коллаген I типа) [35]. При этом контролировать форму, размер и расположение привитых клеток практически невозможно [53, 54].

Наряду с однослойным существует также культивирование в биореакторах: перфузионных, цилиндрических и ротационных. В биореакторах микроокружение имитирует условия *in vivo*, происходит микрогравитация, периодическое обновление питательной среды в клеточной культуре и удаление продуктов метаболизма. В биореакторах клетки способны расти и пролиферировать на микро- и макроносителях, а также в суспензиях [55].

Альтернативным методом считается метод «клеточного листа», заключающийся в культивировании клеток до тех пор, пока они не сформируют обширные межклеточные взаимодействия и не выработают собственный внеклеточный матрикс, с помощью которого они приобретут форму клеточного листа. При этом «клеточный лист» с культуральной посуды снимают при пониженной температуре (20 °C) и накладывают один лист на другой для реконструкции гомогенной и гетерогенной 3D-тканей. Однако при этом методе возможно появление некроза внутри листа из-за отсутствия васкуляризации, и этой проблеме в настоящее время уделяется большое внимание.

По данному методу проведены успешные работы на миокарде и кровеносных сосудах, сетчатке и роговице глаза, пищеводе, а также костях, сухожилиях и хряще [56, 57, 58]. Методом клеточного листа культивированы кератиноциты, пигментные эпителиальные клетки, уротелиальные клетки, клетки периодонтальной связки, эндотелиальные клетки аорты [59], кардиомиоциты [60] и эпителиальные клетки почек [61].

Клеточные технологии в регенерации хрящевой ткани

Наряду с инженерией костей активно развивается и инженерия хрящей, дефект которых, как правило, возникает при травме, дегенеративных расстройствах и повреждении субхондральной кости и менисков, что, в свою очередь, приводит к серьёзным осложнениям. Во-первых, развивается остеоартроз, которым страдает до 25% населения, а лечение терапевтическими и хирургическими способами только облегчает симптомы. А во-вторых, повреждение приводит к катаболическому разрушению суставного хряща и менисков, деструкция которого поражает преимущественно суставную поверхность, в результате чего пациент нуждается в протезировании сустава [62].

В настоящее время мезенхимальные стволовые клетки (МСК), выделенные из синовиальной оболочки коленных суставов, представляют большой научный и практический интерес для регенеративной медицины и тканевой инженерии, поскольку они более эффективно участвуют в хондрогенезе и обладают более высоким пролиферативным и регенераторным потенциалом, чем МСК костного мозга и жировой ткани. Целью данной работы было изучить влияние ростовых факторов TGF- β 1, IGF-I, BMP-2 и BMP-4 на хондрогенную дифференцировку МСК синовиальной оболочки человека в условиях *in vitro*. В исследовании были использованы трансформирующий фактор роста TGF- β 1 (10 нг/мл), инсулиноподобный ростовой фактор IGF-I (500 нг/мл), костный морфогенетический белок BMP-2 (100 нг/мл) и BMP-4 (100 нг/мл). Для изучения влияния факторов роста на хондрогенную дифференцировку МСК культивирование проводили в 15 мл пробирках по 250 000 клеток до образования шариков, которые были проанализированы с помощью морфометрических и гистохимических методов. Результаты наших исследований показали, что применение ростового фактора TGF- β 1 оказывало незначительный эффект на рост шариков, полученных во время хондрогенной дифференцировки МСК по сравнению с IGF-I, BMP-2 и BMP-4. Однако при изучении сочетанного влияния ростовых факторов было обнаружено, что комбинация TGF- β 1 и BMP-4

способна более значительно усилить рост хондриновых шариков, по сравнению с другими комбинациями. Под влиянием этих двух факторов образовывались шарики, содержащие большое количество коллагена, и более зрелые хондроциты. Таким образом, TGF- β 1 и BMP-4 являются ключевыми ростовыми факторами, необходимыми для более эффективной дифференцировки МСК синовиальной оболочки человека в хондроциты. Полученные результаты также могут быть полезны для разработки клеточной терапии остеоартритов и хрящевых дефектов [43].

Заключение

Тканевая инженерия по своей сути является уникальной наукой, она объединяет клетки костного мозга или мезенхимальные стволовые клетки, синтетические каркасы и молекулярные сигналы для формирования гибридных конструкций. В классическом подходе тканевая инженерия состоит из сбора ткани у пациента, выделения МСК путём присоединения культуры ткани к пластику культуральной посуды, пролиферации и дифференцировки данных клеток в культуре до достаточного количества, а затем имплантации тому же пациенту [37]. Преимуществом использования МСК является то, что клетки могут быть выделены из большого количества взрослых тканей, они активно пролиферируют без потери их многолинейной дифференцировочной способности, включая остеогенный и хондрогенный дифференцировочные потенциалы. Клинические исследования по применению МСК для регенерации костной и хрящевой тканей проводятся до сих пор. Несмотря на многообещающие результаты многочисленных работ в регенеративной медицине, необходимы дополнительные исследования для установления соответствующих условий и методов применения МСК у человека.

Литература

1. Yorukoglu A.C., Kiter A.E., Akkaya S., Satioglu-Tufan N.L., Tufan A.C. A concise review on the use of mesenchymal stem cells in cell sheet-based tissue engineering with special emphasis on bone tissue regeneration. *Stem Cells Int.* 2017; 2017:2374161. doi: 10.1155/2017/2374161.
2. Bhardwaj N., Chouhan D., Mandal B.B. Tissue engineered skin and wound healing: Current strategies and future directions. *Curr Pharm Des.* 2017; 23(24):3455–3482. doi: 10.2174/1381612823666170526094606.
3. Arassoli S.P., Jessop Z.M., Al-Sabah A., Gao N., Whitaker S., Doak S., Whitaker I.S. Skin tissue engineering using 3D bioprinting: An evolving research field. *Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2018; 71(5):615–623. doi: 10.1016/j.bjps.2017.12.006.
4. Modugno F.D., Colosi C., Trono P., Antonacci G., Ruocco G., Nisticò P. 3D models in the new era of immune oncology: focus on T cells, CAF and ECM. *J Exp Clin Cancer Res.* 2019; 38(1):117. doi: 10.1186/s13046-019-1086-2.
5. Schmidt S.K., Schmid R., Arkudas A., Kengelbach-Weigand A., Bosserhoff AK. Tumor cells develop defined cellular phenotypes after 3D-bioprinting in different bioinks. *Cells.* 2019; 8(10):1295. doi: 10.3390/cells8101295.
6. Sun Q., Barz M., De Geest B.G., Diken M., Hennink W.E., Kiessling F., Lammers T., Shi Y. Nanomedicine and macroscale materials in immuno-oncology. *Chem Soc Rev.* 2019; 48(1):351–381. doi: 10.1039/c8cs00473k.
7. Shevchenko I.L. Cellular technologies in cardiology. *Vestn Ross Akad Med Nauk.* 2003; 11:6–10.
8. Duran A.G., Reidell O., Stachelscheid H., Klose K., Gossen M., Falk V., Röhl W., Stamm C. Regenerative medicine/cardiac cell therapy: Pluripotent stem cells. *Thorac Cardiovasc Surg.* 2018; 66(1):53–62. doi: 10.1055/s-0037-1608761.
9. Goradel N.H., Ghiyami-Hour F., Negahdari B., Malekshahi Z.V., Hashemzahi M., Masoudifar A., Mirzaei H. Stem cell therapy: A new therapeutic option for cardiovascular diseases. *J Cell Biochem.* 2018; 119(1): 95–104. doi: 10.1002/jcb.26169.
10. Taoufik E., Kouroupi G., Zygiogianni O., Matsas R. Synaptic dysfunction in neurodegenerative and neurodevelopmental diseases: an overview of induced pluripotent stem-cell-based disease models. *Open Biol.* 2018; 8(9):180138. doi: 10.1098/rsob.180138.
11. Arber C., Lovejoy C., Wray S. Stem cell models of Alzheimer's disease: Progress and challenges. *Alzheimers Res Ther.* 2017; 9(1):42. doi: 10.1186/s13195-017-0268-4.
12. Shan L.H., An X.Y., Xu M.M., Fan S.P., Zhong H., Ni P., Chi H. Analysis on the trend of innovation and development in the field of ophthalmology. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi.* 2018; 54(6):452–463. doi: 10.3760/cma.j.isn.0412-4081.2018.06.012.
13. Nuñez J., Vignoletti F., Caffesse R.G., Sanz M. Cellular therapy in periodontal regeneration. *Periodontol 2000.* 2019; 79(1):107–116. doi: 10.1111/prd.12250.
14. Millman J.R., Pagliuca F.W. Autologous pluripotent stem cell-derived β -like cells for diabetes cellular therapy. *Diabetes.* 2017; 66(5):1111–1120. doi: 10.2337/db16-1406.
15. Плеханов А.Н., Монголов Х.П. К вопросу о лечении печеночной недостаточности (обзор литературы). *Бюллетень ВЧЦ СО РАМН.* 2009; 2(66):179–185 [Plekhanov A.N., Mongolov H.P. K voprosu o lechenii pechenochnoy nedostatochnosti (obzor literatury). *Byulleten' VSNC SO RAMN.* 2009; 2(66):179–185. In Russian].
16. Уразметова М.Д., Хаджибаев Ф.А., Мирзакулов А.Г. Сравнительная оценка применения различных видов эмбриональных гепатоцитов при лечении острой печеночной недостаточности. *Вестник экстренной медицины.* 2017; XI(3):79–82 [Urazmetova M.D., Khadjibaev F.A., Mirzakulov A.G. Sravnitel'naya ocenka primeneniya razlichnykh vidov embrional'nyh gepatocitov pri lechenii ostroj pechenochnoy nedostatochnosti. *Vestnik ekstretnoy mediciny.* 2017; XI(3):79–82. In Russian].
17. Miromanov A.M., Miromanov M.M., Miromanova N.A. Modern possibilities of the use of stromal-vascular fraction of adipose tissue in traumatology and orthopedics. *Политравма/Polytrauma.* 2019; 3:83–89.
18. Uzbaz F., May I.D., Parisi A.M., Kaya A., Perkins A.D., Memili E. Molecular physiognomies and applications of adipose-derived stem cells. *Stem Cell Rev.* 2015; 11(2):298–308. DOI: 10.1007/s12015-014-9578-0.
19. Акопьян А.С., Белоусов Д.Ю., Рысулы М.Р., Куликов А.В. Некоторые актуальные проблемы клинических исследований стволовых клеток. *Качественная клиническая практика.* 2010; (1):22–28 [Akopyan A.S., Belousov D.Yu., Rysuly M.R., Kulikov A.V. Nekotorye aktual'nye problemy klinicheskikh issledovaniy stvolovykh kletok. *Kachestvennaya klinicheskaya praktika.* 2010; (1):22–28. In Russian].
20. Miguel-Beriain I. The ethics of stem cells revisited. *Adv Drug Deliv Rev.* 2015; 82–83:176–80. doi: 10.1016/j.addr.2014.11.011.

21. Lavazza A., Massimini M. Cerebral organoids: ethical issues and consciousness assessment. *J Med Ethics*. 2018; 44(9):606–610. doi: 10.1136/medethics-2017-104555.
22. Petrini C. Bioethics of clinical applications of stem cells. *Int J Mol Sci*. 2017; 18(4):814. doi: 10.3390/ijms18040814.
23. Zheng Y.L. Some ethical concerns about human induced pluripotent stem cells. *Sci Eng Ethics*. 2016; 22(5):1277–1284. doi: 10.1007/s11948-015-9693-6.
24. Aulisio M.P. Double effect, principle or doctrine of. In: Jennings B. (editor) *Bioethics*. Gale: Farmington Hills, MI, USA. 2014; 2:889–894.
25. Дремина Н.Н., Трухан И.С., Шурыгина И.А. Клеточные технологии в травматологии: от клетки до тканевой инженерии. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6):66–76 [Dremina N.N., Truhan I.S., Shurygina I.A. Kletochnye tekhnologii v travmatologii: ot kletki do tkanevoj inzhenerii. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6):66–76. In Russian]. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.8.
26. Деев Р.В., Исаев А.А., Кочиш А.Ю., Тихилов Р.М. Клеточные технологии в травматологии и ортопедии: пути развития. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2007; 2(4):18–30 [Deev R.V., Isaev A.A., Kochish A.Yu., Tihilov P.M. Kletochnye tekhnologii v travmatologii i ortopedii: puti razvitiya. *Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya*. 2007; 2(4):18–30. In Russian].
27. Williams S.K., Morris M.E., Kosnik P.E., Lye K.D., Gentzkow G.D., Ross C.B., et al. Point-of-care adipose-derived stromal vascular fraction cell isolation and expanded polytetrafluoroethylene graft sodding. *Tissue Eng Part C Methods*. 2017; 23(8):497–504. DOI: 10.1089/ten.TEC.2017.0105.
28. Astori G., Vignati F., Bardelli S., Tubio M., Gola M., Albertini V., et al. «In vitro» and multicolor phenotypic characterization of cell subpopulations identified in fresh human adipose tissue stromal vascular fraction and in the derived mesenchymal stem cells. *J. Transpl. Med*. 2007; 5:55. DOI: 10.1186/1479-5876-5-55.
29. Bourin P., Bunnell B.A., Casteilla L., Dominici M., Katz A.J., Redl H., et al. Stromal cells from the adipose tissue-derived vascular fraction and culture expanded adipose tissue-derived stromal/stem cells: a joint statement of the International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS) and the International Society for Cellular Therapy (ISCT). *Cytotherapy*. 2013; 15(6):641–648. DOI: 10.1016/j.jcyt.2013.02.006.
30. Brzoska M., Geiger H., Gauer S., Baer P. Epithelial differentiation of human adipose tissue derived adult stem cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2005; 330:142–150. DOI: 10.1016/j.bbrc.2005.02.141.
31. Cao Y., Sun Z., Liao L., Meng Y., Han Q., Zhao R.C. Human adipose tissue-derived stem cells differentiate into endothelial cells in vitro and improve postnatal neovascularization in vivo. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2005; 332(2):370–379. DOI: 10.1016/j.bbrc.2005.04.135.
32. Gronthos S., Franklin D.M., Leddy H.A., Robey P.J., Storms R.W., Gimble J.M. Surface protein characterization of human adipose tissue derived stromal cells. *J. Cell. Physiol*. 2001; 189:54–63. DOI: 10.1002/jcp.1138.
33. Bara J.J., Richards R.G., Alini M., Stoddart M.J. Concise review: Bone marrow-derived mesenchymal stem cells change phenotype following in vitro culture: implications for basic research and the clinic. *Stem Cells*. 2014; 32(7):1713–23. DOI: 10.1002/stem.1649.
34. Gómez-Barrena E., Rosset P., Lozano D., Stanovici J., Ermtaller C., Gerbhard F. Bone fracture healing: Cell therapy in delayed unions and nonunions. *Bone*. 2015; 70:93–101. doi: 10.1016/j.bone.2014.07.033.
35. Шаманская Т.В., Осипова Е.Ю., Румянцев С.А. Технологии культивирования мезенхимальных стволовых клеток ex vivo для клинического использования. *Онкогематология*. 2009; 3:69–76 [Shamanskaya T.V., Osipova E.Yu., Rumyantsev S.A. Tekhnologii kul'tivirovaniya mezenhimal'nyh stvolovykh kletok ex vivo dlya klinicheskogo ispol'zovaniya. *Onkogematologiya*. 2009; 3:69–76. In Russian].
36. Asadulaev M.S., Lukyanov S.A., Likhtshangof A.Z. Historical, bioethical and legal aspects. *Medicine and health care organization*. 2017; 2(1):42–47.
37. Koga H., Engebretsen L., Brinckmann J.E., Muneta T., Sekiya I. Mesenchymal stem cell-based therapy for cartilage repair: A review. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2009; 17(11):1289–1297. doi: 10.1007/s00167-009-0782-4.
38. Тиляяков А.Б., Уразметова М.Д., Каримов Б.Р., Убайдуллаев Б.С. Экспериментальное изучение процесса регенерации хрящевой ткани после трансплантации аллофибробластов. *Вестник экстренной медицины*. 2016; 9(1):59–65 [Tilayakov A.B., Urazmetova M.D., Karimov B.R., Ubajdullaev B.S. Eksperimental'noe izuchenie processa regeneracii hryashchevoj tkani posle transplantacii allofibroblastov. *Vestnik ekstrennoj mediciny*. 2016; 9(1):59–65. In Russian].
39. Friedenstein A.J., Gorskaja J.F., Kulagina N.N. Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs. *Exp Hematol*. 1976; 4:267–274.
40. Caplan A.I. Mesenchymal stem cells. *J Orthop Res*. 1991; 9:641–650.
41. Lupatov A.Yu., Vdovin A.S., Vakhrushev I.V., Poltavtseva R.A., Yarygin K.N. Comparative analysis of the expression of surface markers on fibroblasts and fibroblast-like cells isolated from various human tissues. *Kletochnye tekhnologii v biologii i meditsine*. 2014; 4:221–228. [In Russian].
42. Shurygin M.G., Shurygina I.A., Dremina N.N., Kanya O.V. Endogenous progenitors as the source of cell material for ischemic damage repair in experimental myocardial infarction under conditions of changed concentration of vascular endothelial growth factor. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2015; 158(4):528–531.
43. Далина А.Д., Мухамбетова А.Е., Батпенев Н.Д., Раймагамбетов Е.К., Огай В.Б. Влияние ростовых факторов TGF-β1, IGF-I, BMP-2 и BMP-4 на хондрогенную дифференцировку мезенхимальных стволовых клеток, выделенных из синовиальной оболочки человека. *Биотехнология. Теория и практика*. 2013; 1:12–15 [Dalina A.D., Muhambetova A.E., Batpenov N.D., Rajmagambetov E.K., Ogay V.B. Vliyanie rostvovykh faktorov TGF-β1, IGF-I, BMP-2 i BMP-4 na hondrogennuyu differencirovku mezenhimal'nyh stvolovykh kletok, vydelennykh iz sinovial'noj obolochki cheloveka. *Biotehnologiya. Teoriya i praktika*. 2013; 1:12–15. In Russian]. DOI: 10.11134/btp.1.2013.2.
44. Sakaguchi Y., Sekiya I., Yagishita K., Muneta T. Comparison of human stem cells derived from various mesenchymal tissues: superiority of synovium as a cell source. *Arthritis & Rheumatism*. 2005; 52(8):2521–2529.
45. Nauta A.J., Fibbe W.E. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells. *Blood*. 2007; 110(10):3499–3506. doi: 10.1182/blood-2007-02-069716.

46. Roux C., Saviane G., Pini J., Belaïd N., Dhib G., Voha C., Ibáñez L., Boutin A., Mazure N.M., Wakkach A., Blin-Wakkach C and Rouleau M (2018) Immunosuppressive Mesenchymal Stromal Cells Derived from Human-Induced Pluripotent Stem Cells Induce Human Regulatory T Cells In Vitro and In Vivo. *Front. Immunol.* 8:1991. doi: 10.3389/fimmu.2017.01991.
47. Лупатов А.Ю., Вдовин А.С., Вахрушев И.В., Полтавцева Р.А., Ярыгин К.Н. Сравнительный анализ экспрессии поверхностных маркеров на фибробластах и фибробластоподобных клетках, выделенных из различных тканей человека. *Клеточные технологии в биологии и медицине.* 2014; 4:221–228 [Lupatov A.Yu., Vdovin A.S., Vahrushev I.V., Poltavceva R.A., Yarygin K.N. Sravnitel'nyy analiz ekspressii poverhnostnykh markerov na fibroblastah i fibroblastopodobnykh kletkah, vydelennykh iz razlichnykh tkanej cheloveka. *Kletochnye tekhnologii v biologii i medicine.* 2014; 4:221–228. In Russian].
48. Mushahary D., Spittler A., Kasper C., Weber V., Charwat V. Isolation, cultivation, and characterization of human mesenchymal stem cells. *Cytometry A.* 2018; 93(1):19–31. doi: 10.1002/cyto.a.23242.
49. Kolaparthi L.K., Sanivarapu S., Moogla S., Kutcham R.S. Adipose tissue-adequate, accessible regenerative material. *Int J Stem Cells.* 2015; 8:121–127.
50. Peng L., Li H., Gu L., Peng X.M., Huang Y.S., Gao Z.L. Comparison of biological characteristics of marrow mesenchymal stem cells in hepatitis B patients and normal adults. *World J Gastroenterol.* 2007; 13(11):1743–1746. doi: 10.3748/wjg.v13.i11.1743.
51. Seebach C., Henrich D., Tewksbury R., Wilhelm K., Marzi I. Number and proliferative capacity of human mesenchymal stem cells are modulated positively in multiple trauma patients and negatively in atrophic nonunions. *Calcif Tissue Int.* 2007; 80(4):294–300. doi: 10.1007/s00223-007-9020-6.
52. Stenderup K., Justesen J., Clausen C., Kassem M. Aging is associated with decreased maximal life span and accelerated senescence of bone marrow stromal cells. *Bone.* 2003; 33(6):919–926. doi: 10.1016/j.bone.2003.07.005.
53. Shimizu T., Yamato M., Kikuchi A., Okano T. Cell sheet engineering for myocardial tissue reconstruction. *Biomaterials.* 2003; 24(13):2309–2316. doi: 10.1016/s0142-9612(03)00110-8.
54. Owaki T., Shimizu T., Yamato M., Okano T. Cell sheet engineering for regenerative medicine: Current challenges and strategies. *Biotechnol J.* 2014; 9(7):904–914. doi: 10.1002/biot.201300432.
55. Radeeva I.F., Dumchenko N.B., Nechaeva E.A. Cell culture on microcarriers in bioreactors. *Vestnik PNIU. Khimicheskaya tekhnologiya i biotekhnologiya.* 2019; 2:22–32. doi: 10-15593/2224-9400/2019.2.02.
56. Kwon O.H., Kikuchi A., Yamato M., Sakurai Y., Okano T. Rapid cell sheet detachment from poly (N-isopropylacrylamide)-grafted porous cell culture membranes. *J Biomed Mater Res.* 2000; 50(1):82–89. doi: 10.1002/(sici)1097-4636(200004)50:1<82:aid-jbm12>3.0.co;2-7.
57. Calve S., Dennis R.G., Kosnik P.E., Baar K., Grosh K., Arruda E.M. Engineering of functional tendon. *Tissue Eng.* 2004; 10(5-6):755–761. doi: 10.1089/1076327041348464.
58. Murdoch A.D., Grady L.M., Ablett M.P., Katopodi T., Meadows R.S., Hardingham T.E. Chondrogenic differentiation of human bone marrow stem cells in transwell cultures: generation of scaffold-free cartilage. *Stem Cells.* 2007; 25(11):2786–2796. doi: 10.1634/stemcells.2007-0374.
59. Sakaguchi K., Shimizu T., Okano T. Construction of three-dimensional vascularized cardiac tissue with cell sheet engineering. *J Control Release.* 2015; 205:83–88. doi: 10.1016/j.jconrel.2014.12.016.
60. L'Heureux N., McAllister T.N., de la Fuente LM. Tissue engineered blood vessel for adult arterial revascularization. *N Engl J Med.* 2007; 357(14):1451–1453. doi: 10.1056/NEJMc071536.
61. Masuda S., Shimizu T., Yamato M., Okano T. Cell sheet engineering for heart tissue repair. *Adv Drug Deliv Rev.* 2008; 60(2):277–285. doi: 10.1016/j.addr.2007.08.031.
62. Bornes T.D., Adesida A.B., Jomha N.M. Mesenchymal stem cells in the treatment of traumatic articular cartilage defects: a comprehensive review. *Arthritis Res Ther.* 2014; 16(5):432. doi: 10.1186/s13075-014-0432-1.
63. Хаджибаев А.М., Фаязов А.Д., Уразметова М.Д., Камиллов У.Р., Ажиниязов Р.С. Клинико-иммунологическая эффективность применения культивированных аллофибробластов в лечении ожоженных с комбинированными поражениями. *Вестник экстренной медицины.* 2014; 1:40–44 [Khadjibaev A.M., Fayazov A.D., Urazmetova M.D., Kamilov U.R., Azhiniyazov R.S. Kliniko-immunologicheskaya effektivnost' primeneniya kul'tivirovannykh allofibroblastov v lechenii obozhzhennykh s kombinirovannymi porazheniyami. *Vestnik ekstretnoy mediciny.* 2014; 1:40–44. In Russian].

TRAVMATOLOGIYA VA ORTOPEDIYADA MEZENXIMAL O'ZAK HUYAYRALARDAN FOYDALANISHNING ZAMONAVIY IMKONIYATLARI

O.A. GANIYEV, E.Y. VALIYEV, B.R. KARIMOV, SH.H. AZIZOV

Respublika shoshilinch tibbiy yordam ilmiy markazi, Toshkent, O'zbekiston

Tayanch-harakat apparatining o'gir shikastlanishlari bilan kechuvchi suyak va tog'ay to'qimalari nuqsonlarini to'ldirish usullarini izlash zarur. Zamonaviy sintetik materiallar, autotransplantatlarni qo'llash kabi zamonaviy davolash usullari ko'p hollarda yetarlicha samara bermaydi. Maqola travmatologik patologiyani davolashda hujayra texnologiyalarini qo'llashga bag'ishlangan. Suyak va tog'ay to'qimalarining tiklanishiga mos material sifatida mezenximal o'zak hujayralarini qo'llashga alohida o'rin berildi. Mezenximal o'zak hujayralar to'qimalarni rekonstruksiya qilish uchun zamonaviy materialdir. Axloqiy va texnologik muammolarga qaramay, hujayra texnologiyalari regenerativ tibbiyotning istiqbolli usuli hisoblanadi.

Kalit so'zlar: travmatologiya, suyak, tog'ay, hujayraviy texnologiyalar, mezenximal o'zak hujayralar, reparatsiya.

Сведения об авторах:

Ганиев Олимжон Атхамович – базовый докторант 1-го года обучения Республиканского научного центра экстренной медицинской помощи. Врач-травматолог.
E-mail: safdil007@gmail.com
Тел.: +998-90-971-11-14.

Валиев Эркин Юлдашевич – руководитель научно-клинического отдела травматологии Республиканского научного центра экстренной медицинской помощи. Доктор медицинских наук. Врач-травматолог.

Каримов Бекзод Рахматжонович – младший научный сотрудник научно-клинического отдела травматологии Республиканского научного центра экстренной медицинской помощи. Врач-травматолог.

Азизов Шохруххужа Хамидуллаевич – врач приёмно-диагностического отделения травматологии Республиканского научного центра экстренной медицинской помощи.

Поступила в редакцию: 28.10.2022

Information about authors:

Ganiev Olimjon Atkhamovich – basic doctoral student of the 1st year at the Republican Scientific Center of Emergency Medicine. Traumatologist.
E-mail: safdil007@gmail.com
Tel.: +998-90-971-11-14.

Valiev Erkin Yuldashevich – head of scientific-clinical department of traumatology of the Republican Scientific Center of Emergency Medicine. Doctor of Medical Sciences. Traumatologist.

Karimov Bekzod Rakhmatjonovich – junior researcher of scientific-clinical department of traumatology of Republican Scientific Center of Emergency Medicine. He is a doctor of traumatology.

Azizov Shohrukhja Hamidullaevich – doctor of the reception-diagnostic department of traumatology at the Republican Scientific Center of Emergency Medicine.

Received: 28.10.2022