

DOI: <https://doi.org/10.22263/2312-4156.2023.2.18>

## Основные проблемы и пути развития клеточных технологий на основе мезенхимальных стволовых клеток для восстановления хрящевой ткани

А.А. Жерносеченко<sup>1,2</sup>, Я.И. Исайкина<sup>1</sup>, Е.Г. Лях<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, г. Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2023. – Том 22, №2. – С. 18-26.

## Main problems and ways of development of cellular technologies based on mesenchymal stem cells for cartilage tissue restoration

H.A. Zhernasechanka<sup>1,2</sup>, Y.I. Isaikina<sup>1</sup>, E.G. Liakh<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2023;22(2):18-26.

---

### Резюме.

Из-за ограниченной способности резидентных хондроцитов восстанавливать поврежденную хрящевую ткань, клеточная терапия на основе мезенхимальных стволовых клеток (МСК) была предложена в качестве нового терапевтического подхода к восстановлению хряща. По своим свойствам МСК представляют собой перспективный ресурс для клеточных биотехнологий. Растущее понимание механизмов, лежащих в основе поддержания и восстановления суставного хряща, способствует расширению возможностей использования МСК в регенеративной медицине. В этом обзоре мы рассматриваем возможные пути, по которым происходит восстановление хрящевой ткани при применении МСК, анализируем проблемы получения гипертрофированного фенотипа клеток при дифференцировке МСК *in vitro* и возможность восстановления зональности суставной поверхности, а также обсуждаем и сравниваем характеристики МСК, полученные из разных источников, и необходимость индукции клеток до введения.

*Ключевые слова:* мезенхимальные стволовые клетки, хондрогенез, клеточные биотехнологии.

### Abstract.

Due to the restricted capacity of resident chondrocytes to regenerate the injury of cartilage tissue, stem cell-based therapies have been proposed as a novel therapeutic approach for cartilage repair. Thanks to their properties mesenchymal stem cells (MSCs) represent a promising resource for cellular biotechnologies. The better understanding of the mechanisms of articular cartilage repair can expand the possibilities of using MSCs in regenerative medicine. In this review, we have considered the possible ways of cartilage restoration by the use of MSCs. We have analyzed the possibility of reducing hypertrophy in MSCs after differentiation *in vitro* and enhancing functional properties of engineered cartilage by creating zonally-tailored structures. We also have discussed and compared the characteristics of MSCs obtained from different sources and the necessity of cellular induction before the introduction.

*Keywords:* mesenchymal stem cells, chondrogenesis, cell biotechnologies.

---

### Введение

В 1970 году А.Я. Фриденштейн и соавт. впервые описали выделенные из костного мозга стро-

мальные клетки-предшественники, способные прикрепляться к пластику и пролиферировать, образуя колонии [1]. Для этой популяции клеток А.И. Caplan в 1991 году ввел название «мезенхималь-

ные стволовые клетки» (МСК) [2]. В дальнейшем Международным обществом клеточной терапии (ISCT – от англ. International Society for Cellular Therapy) в 2006 году было предложено использовать термин «Multipotent mesenchymal stromal cells» с сохранением аббревиатуры МСК, которая прижилась в широких кругах специалистов, занимающихся вопросами клеточной терапии [3]. На данный момент разработаны протоколы получения МСК из различных источников: жировой ткани, плаценты, пуповинной крови, пульпы зуба, кожи и подкожной клетчатки, слюнных желез, печени, легких, менструальной крови, периферической крови, обонятельной выстилки и т.д. [4].

Для установления принадлежности клеток, полученных в разных лабораториях и из различных источников, к популяции МСК и облегчения обмена данными между исследователями в 2006 году ISCT были определены минимальные критерии: наличие адгезивных свойств в стандартных условиях культивирования; экспрессия поверхностных молекул CD105, CD73 и CD90 и отсутствие экспрессии CD45, CD34, CD14 или CD11b, CD79 $\alpha$  или CD19 и HLA-DR; способность к дифференцировке в остеогенном, адипогенном и хондрогенном направлениях *in vitro* [3].

Использование МСК в клеточной терапии обусловлено следующими их свойствами: мультипотентностью, высоким пролиферативным потенциалом, гипоиммуногенностью, трофической способностью, иммуномодулирующей активностью [5]. МСК имеют мезодермальное происхождение и характеризуются пластичностью и способностью к ортодоксальной дифференцировке в хондрогенном, остеогенном и адипогенном направлениях [6]. В совокупности все эти качества определяют востребованность МСК для широкого клинического применения в иммуносупрессивной, противовоспалительной и регенеративной терапиях.

В хрящевой ткани взрослого организма человека (созревание ткани происходит к 18-21 годам) хондроциты составляют всего 1-5% от общего объема хряща, в то время как компоненты внеклеточного матрикса составляют оставшиеся 95-99%. Хондроциты продуцируют малое количество внеклеточного матрикса и почти не отвечают на воздействие (индукцию) ростовыми факторами [7], что является причиной неэффективности медикаментозной терапии при восстановлении дефектов или дегенеративных изменений хряща. Одним из перспективных на-

правлений репарации хрящевой ткани является применение МСК, поскольку именно эти клетки могут быть увеличены *ex vivo* до клинически значимого количества с сохранением потенциала к хондрогенной дифференцировке [8].

### Механизмы восстановления хрящевой ткани при помощи МСК

Первоначально целью использования МСК было образование хрящевой ткани *de novo* из дифференцированных клеток.

Хрящевая ткань имеет мезенхимальное происхождение [7]. Хрящевой дифференцион представлен последовательно сменяющимися в процессе созревания клетками: стволовыми, хондрогенными, хондробластами, хондроцитами. В норме хондроциты, проявляя спокойный фенотип, синтезируют протеогликаны и другие неколлагеновые молекулы.

Для успешной реализации программы хондрогенной дифференцировки в МСК *in vivo* необходимо выполнение большого количества условий. Тем не менее, процесс дифференцировки может быть воспроизведен *in vitro* с применением только некоторых из этих условий: добавлением в культуральную среду цитокинов семейства TGF $\beta$  (от англ. transforming growth factor beta) и созданием высокоплотной культуры клеток [7].

Хондрогенез на клеточном уровне представляет собой последовательный процесс, состоящий из двух основных стадий: конденсации и дифференцировки. Понимание молекулярных механизмов реализации этой программы играет важную роль в разработке методов для регенерации хрящевой ткани. На стадии конденсации происходит образование конгломератов МСК за счет передвижения клеток, без их пролиферации. Процесс инициируется контактным взаимодействием клеток между собой и матриксом, благодаря адгезивным молекулам N-кадгерина и N-САМ, которые продуцируются недифференцированными МСК. В результате происходят изменения в цитоскелете клеток и формирование межклеточных щелей. МСК на данном этапе синтезируют маркеры конденсации – коллагены I, III, V типов, а также фибронектин и протеогликаны [9].

Стадию дифференцировки можно рассмотреть как последовательность ступеней созревания, первая из которых – это переход недифференцированных МСК в ранние хондробласты, которые еще способны к пролиферации [10].

Происходит экспрессия хондроспецифических генов, таких как транскрипционный фактор SOX9 (от англ. SRY-Box transcription factor 9), который является важнейшим фактором-регулятором последовательных событий хондрогенеза, и генов COL2 и AGG, отвечающих за синтез компонентов внеклеточного матрикса коллагена II типа и агрекана [10].

Последующее изменение внеклеточного матрикса связано с появлением протеогликанов тенасцина и матрилинов, белков тромбоспондина и олигомерного матриксного белка хряща COMP (от англ. cartilage oligomeric matrix protein), при этом наблюдается исчезновение коллагена I типа, фибронектина и N-кадгерина. Результатом этих событий становится трансформация клеток в полностью дифференцированные хондроциты [11], в то же время происходит формирование компонентов внеклеточного матрикса, представленных коллагеном II типа и агреканом [7].

В 1998 году В. Johnstone и соавт. провели успешную *in vitro* хондрогенную дифференцировку МСК кролика, подтвержденную увеличением экспрессии мРНК гена коллагена II типа и усилением активности щелочной фосфатазы в агрегатах клеток. Для эксперимента они впервые использовали в качестве модели трехмерную пеллет-систему, которая имитировала межклеточные взаимодействия в прехрящевой конденсации во время эмбрионального развития [12].

У.В. Park и соавт. показали, что через несколько суток после введения МСК в сустав клетки не детектируются в области введения, несмотря на идущий процесс регенерации ткани [13]. Было выдвинуто предположение, что цитокины, продуцируемые МСК, играют важнейшую роль в восстановлении ткани, воздействуя на эндогенные стволовые клетки и индуцируя их к пролиферации и дифференцировке [14, 15].

Таким образом, после мобилизации и миграции в места дефекта МСК способствуют восстановлению поврежденного участка ткани вследствие секреции клетками химических факторов (хемокины, цитокины, ростовые факторы) и/или их дифференцировки [15].

Результаты исследования по применению МСК, полученных из пуповинной крови, в гиалуроновой кислоте для восстановления сустава позволили У. В. Park и соавт. сделать заключение, что паракринное воздействие МСК на субхондральные прогениторные клетки играет существенную роль в регенерации хряща, а противовоспалитель-

ный эффект МСК обеспечивает условия, в которых *de novo* образовавшаяся ткань наиболее полно ревалентна восстанавливаемой [13].

### **Строение суставного хряща и возможность восстановления его зональности**

Гиалиновая хрящевая ткань состоит из трех различающихся по своим свойствам зон. Поверхностная зона составляет 10-20% от общей толщины хрящевой ткани и представлена уплощенными хондроцитами, матриксом с низким содержанием протеогликанов и расположенными параллельно поверхности коллагеновыми волокнами. Она наиболее чувствительна для гибели клеток после травмы [16]. В поверхностном слое концентрация протеогликанов низкая, что способствует более высокой проницательности ткани [7]. Хондроциты поверхностного слоя секретируют лубрициновые протеины и коллаген I типа, которые не присутствуют в других слоях. Лубрицин является гликопротеином синовиальной жидкости, и его функция заключается в уменьшении износа суставного хряща. Вместе с гиалуроновой кислотой он обеспечивает низкий коэффициент трения, это способствует эффективному скольжению при движении сустава. Средняя, или, как её еще называют, промежуточная, зона гиалинового хряща составляет 40-60% общей толщины и представлена большими сферическими хондроцитами, которые окружены внеклеточным матриксом. Она характеризуется наиболее высоким содержанием протеогликанов. Хондроциты в этом слое хряща секретируют большое количество коллагена II типа и протеогликанов (в основном агрекан). Расположение коллагеновой фибриллярной сети становится более произвольным. Глубокая зона (20-50% общей толщины хрящевой ткани) содержит хондроциты, которые организованы в очаги колоннообразных клеток. В этом регионе коллаген II типа расположен перпендикулярно поверхности. Глубокая зона характеризуется наименьшим содержанием хондроцитов, увеличением концентрации протеогликанов и присутствием коллагена X типа. Эта часть имеет уникальный состав матрикса с хондроцитами, экспрессирующими маркеры гипертрофии [7].

Стандартные методы лечения полнослойных дефектов хряща часто способствуют формированию волокнистого хряща в месте повреждения, качество которого из-за отсутствия зональной

организации со временем ухудшается. Имплантация аутологических хондроцитов уменьшает образование волокнистого хряща, но не может восстановить зональную организацию суставной поверхности, что в некоторых случаях приводит к периферической гипертрофии и кальцификации [16]. Поэтому для успешной полной регенерации суставной поверхности необходима разработка конструкции, которая могла бы имитировать зонально-специфическую структуру суставной ткани с различными фенотипами клеток в своем составе. S. Moeinzadeh и соавт. в своем исследовании показали, что добавление коктейля ростовых факторов TGF $\beta$ 1 и BMP7 (от англ. bone morphogenetic protein 7) стимулирует дифференцировку МСК человека в фенотип хондроцитов поверхностной зоны суставного хряща, что подтверждается синтезом клетками белка поверхностной зоны, коллагена II типа, SOX9, тогда как добавление IGF (от англ. insulin-like growth factor) стимулирует дифференцировку МСК в фенотип хондроцитов промежуточной зоны (агрекан) [16]. Авторы также отметили влияние плотности заселения МСК в носитель на дальнейшую хондродифференцировку клеток. Так, МСК с высокой плотностью, инкапсулированные в гидрогель, при дифференцировке в хондроциты экспрессируют маркеры поверхностной и промежуточной зон суставного хряща (COL2, SOX9, AGG), тогда как МСК с низкой плотностью – маркеры глубокой зоны (COL10 и щелочная фосфатаза) [16]. Дальнейшие разработки в данной области смогут способствовать получению клеточно-инженерных конструкций, адаптированных к зонам и с фенотипическим сдвигом от клеток поверхностной зоны к гипертрофическим хондроцитам.

### **Проблемы хондрогенной дифференцировки МСК *in vitro***

Одной из проблем *in vitro* дифференцировки МСК является получение гипертрофированных хондроцитов, которые впоследствии могут подвергаться апоптозу и кальцификации [17]. В нативной хрящевой ткани процент коллагена X типа от общего содержания коллагенов составляет около 1% [7]. В условиях физиологической нормы суставной хрящ – это иммунологически инертная и регенераторно-статическая ткань, и с позиции тканевого гистогенеза и системообразующих факторов (СОФ) воспроизведение ткани

носит положительно изменяющийся и стабилизирующий характер. В неблагоприятных условиях при воздействии на ткань дестабилизирующих СОФ воспроизведение структурных частей ткани является недостаточным, из-за чего происходит дистрофия и деградация хрящевой ткани [18].

R.V. Jakobsen и соавт., исследуя 5 ростовых факторов в различных комбинациях (TGF $\beta$ , BMP, дексаметазон, IGF, FGF (от англ. fibroblast growth factor)), отмечали, что все эти факторы стимулируют реализацию программы хондрогенеза в МСК и росту экспрессии маркеров гиалинового хряща (AGG, COL2, COL11, COMP). С другой стороны, те же факторы связаны с гипертрофией хондроцитов, что подтверждалось экспрессией маркеров, ассоциированных с гипертрофией – COL10 и RUNX2 (ген одноименного транскрипционного фактора от англ. Runt-related transcription factor 2) [19].

В процессе хондрогенной дифференцировки МСК экспрессируют и COL2, и COL10. Четкого объяснения данного явления нет. Некоторые авторы связывают это с особенностями метиллирования гена COL10 в МСК [20]. Согласно другой точке зрения, происходит нарушение взаимосвязи между SOX9 и коллагеном X типа. При *in vivo* дифференцировке клеток в хондрогенном направлении SOX9 осуществляет пространственно-временной контроль над экспрессией генов COL10 и таким образом контролирует переход клеток в гипертрофированный фенотип, но в процессе *in vitro* дифференцировки пространственно-временной контроль, присутствующий *in vivo*, отсутствует, и поэтому в большинстве случаев МСК продолжают экспрессировать COL2 и COL10 одновременно [21].

Ряд работ показал, что депонирование коллагена X типа было значительно ниже при совместном культивировании МСК и хондроцитов, по сравнению с монокультивированием МСК [22]. Исследования J. Liu и соавт. показали, что кондиционная среда культуры хондроцитов содержит TGF $\beta$ 1, TGF $\beta$ 2, TGF $\beta$ 3, IGF1 и IGF2 [23].

Это может свидетельствовать о возможности контроля хондрогенного пути дифференцировки МСК и ингибирования экспрессии COL10.

### **Применение МСК из различных источников**

Тканевые источники МСК, используемых в клеточной терапии, принято делить на взрослые

(костный мозг, периферическая кровь, жировая ткань) и неонатальные (пупочный канатик, Вартонов студень, плацента, плодные оболочки) [24].

Применению МСК, полученных из костного мозга и плаценты, для регенерации хрящевой ткани посвящено много экспериментальных и клинических исследований, результаты которых подтвердили эффективность этого метода клеточной терапии, но нет единого мнения о преимуществе использования МСК из того или иного источника. Нео J.S. и соавт. в своем исследовании потенциала дифференцировки в хондрогенном направлении и иммуномодулирующего эффекта показали, что МСК костного мозга (КМ-МСК) и жировой ткани представляют собой более оптимальный источник стволовых клеток для тканевой инженерии, по сравнению с МСК плаценты (П-МСК) [25].

М.Е. Bernardo и соавт. в своей экспериментальной работе продемонстрировали, что КМ-МСК обладают более высокой способностью к хондрогенной дифференцировке, чем П-МСК [26]. С другой стороны, S. Hsu и соавт. придерживаются противоположного мнения, что применение П-МСК для тканевой инженерии хрящевой ткани более предпочтительно, чем КМ-МСК [27].

N. Beeravolu и соавт., используя молекулярно-генетический метод для оценки интенсивности хондрогенной дифференцировки МСК, выделенных из различных тканей, установили, что МСК, выделенные из области соединения плаценты с пуповиной, в случае хондрогенной дифференцировки имели более высокую экспрессию генов хондрогенеза SOX9 и COL2 по сравнению КМ-МСК [28].

Проведенное нами исследование выявило, что реализация хондрогенной программы в КМ-МСК происходит в большей степени за счет экспрессии коллагенов (COL2, COL10), в то время как для П-МСК характерен более высокий потенциал в индукции синтеза неколлагеновых белков внеклеточного матрикса, кодируемых генами COMP и VER [29].

### **Применение нативных или индуцированных МСК**

На сегодняшний день в клинической практике используются в основном нативные аллогенные или аутологичные МСК. Результатом имплантации недифференцированных МСК в место дефекта было улучшение клинических показате-

лей и положительная функциональная динамика через 12-48 месяцев после введения МСК [30]. Тем не менее, H. Nejadnik и соавт. после применения МСК для регенерации хрящевой ткани наблюдали только частичное образование гиалинового хряща [31]. Поэтому было выдвинуто предположение, что имплантация предварительно преддифференцированных МСК приведет к более быстрой и лучшей регенерации хряща по сравнению с использованием недифференцированных МСК. Было постулировано, что это связано с лучшей функциональностью предварительно дифференцированных клеток и ускоренным образованием нового гиалиноподобного хряща, который обеспечивает большую механическую прочность имплантата, способствуя лучшей защите введенных клеток [32]. В работе V. Marquass и соавт. гели, содержащие преддифференцированные КМ-МСК, показали значительно лучший гистологический результат по сравнению с гелями с недифференцированными МСК. De novo образованная ткань из преддифференцированных МСК обнаружила положительное иммуногистохимическое окрашивание на коллаген II типа [33]. Аналогичные результаты получены M. Zscharnack и соавт., которые показали, что *in vitro* хондрогенная преддифференцировка КМ-МСК влияет на результат применения МСК *in vivo* на модели овцы, приводя к превосходным гистологическим результатам через 6 месяцев [34]. Vornes и соавт. оценили имплантацию в дефект сустава овцы преддифференцированных аутологичных МСК костного мозга в составе каркаса из гиалуриновой кислоты. Через 6 месяцев в зоне дефекта наблюдалось развитие хрящевой репаративной ткани, которая содержала сафранин О-положительные протеоглики и имела высокий процент заполнения дефекта и хорошие гистологические показатели [35]. В экспериментальной работе на собаках было показано, что при лечении глубокого повреждения суставного хряща с использованием преддифференцированных в хондрогенном направлении МСК наблюдается полное заполнение дефекта суставной поверхности гиалиноподобной тканью, что в случае использования недифференцированных МСК отсутствовало [36].

Тем не менее, в ряде других исследований, сравнивающих эффективность предварительно дифференцированных и недифференцированных МСК в восстановлении хряща, были получены противоположные результаты. Так, Y.V.

Park и соавт. в своей работе на модели крысы продемонстрировали, что применение недифференцированных МСК плаценты привело к более благоприятному восстановлению хряща, чем использование преддифференцированных в хондрогенном направлении МСК. [37]. Н. Dashtdar и соавт. в своем исследовании при применении преддифференцированных и недифференцированных МСК костного мозга не выявили значительных отличий между оценками по шкале О'Дрисколла и содержанием протеогликанов [38].

### Заключение

Анализируя опубликованные результаты исследований по применению МСК для репарации хрящевой ткани, можно отметить, что на сегодняшний день накоплен большой объем данных о механизме хондрогенной дифференцировки этих клеток как *in vitro*, так и *in vivo*. Но, несмотря на активность проводимых экспериментальных работ, остаются нерешенными многие вопросы, связанные с получением *in vitro* полноценного клеточного имплантата на основе МСК, способного эффективно восстановить дефект гиалинового хряща.

### Литература

1. Friedenstein, A. J. The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells / A. J. Friedenstein, R. K. Chailakhjan, K. S. Lalykina // *Cell. Tissue Kinet.* 1970 Oct. Vol. 3, N 4. P. 393–403. doi: 10.1111/j.1365-2184.1970.tb00347.x
2. Caplan, A. I. Mesenchymal stem cells / A. I. Caplan // *J. Orthop. Res.* 1991 Sep. Vol. 9, N 5. P. 641–650. doi: 10.1002/jor.1100090504
3. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement / M. Dominici [et al.] // *Cytotherapy.* 2006. Vol. 8, N 4. P. 315–317. doi: 10.1080/14653240600855905
4. Mesenchymal stem/stromal cell-based therapy: mechanism, systemic safety and biodistribution for precision clinical applications / W.-Z. Zhuang [et al.] // *J. Biomed. Sci.* 2021 Apr. Vol. 28, N 1. P. 28. doi: 10.1186/s12929-021-00725-7
5. Isolation and characterization of human mesenchymal stromal cell subpopulations: comparison of bone marrow and adipose tissue / H. Busser [et al.] // *Stem. Cells Dev.* 2015 Sep. Vol. 24, N 18. P. 2142–2157. doi: 10.1089/scd.2015.0172
6. Adipogenesis, osteogenesis, and chondrogenesis of human mesenchymal stem/stromal cells: a comparative transcriptome approach / A. W. Robert [et al.] // *Front. Cell. Dev. Biol.* 2020 Jul. Vol. 8. P. 561. doi: 10.3389/fcell.2020.00561
7. Articular cartilage: from formation to tissue engineering / S. Camarero-Espinosa [et al.] // *Biomater. Sci.* 2016 May. Vol. 4, N 5. P. 734–767. doi: 10.1039/c6bm00068a
8. The regulatory role of signaling crosstalk in hypertrophy of mscs and human articular chondrocytes / L. Zhong [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* 2015 Aug. Vol. 16, N 8. P. 19225–19247. doi: 10.3390/ijms160819225
9. The role of growth factors in stem cell-directed chondrogenesis: a real hope for damaged cartilage regeneration / E. Augustyniak [et al.] // *Int. Orthop.* 2015 May. Vol. 39, N 5. P. 995–1003. doi: 10.1007/s00264-014-2619-0
10. Quintana, L. S. Morphogenetic and regulatory mechanisms during developmental chondrogenesis: new paradigms for cartilage tissue engineering / L. S. Quintana, N. I. zur Nieden, C. E. Semino // *Tissue Eng. Part. B. Rev.* 2009 Mar. Vol. 15, N 1. P. 29–41. doi: 10.1089/ten.teb.2008.0329
11. Hidaka, C. Regulatory mechanisms of chondrogenesis and implications for understanding articular cartilage homeostasis / C. Hidaka, M. B. Goldring // *Current Rheumatol. Rev.* 2008. Vol. 4, N 3. P. 136–147. doi: 10.2174/157339708785133541
12. In vitro chondrogenesis of bone marrow-derived mesenchymal progenitor cells / B. Johnstone [et al.] // *Exp. Cell. Res.* 1998 Jan. Vol. 238, N 1. P. 265–272. doi: 10.1006/excr.1997.3858
13. Single-stage cell-based cartilage repair in a rabbit model: cell tracking and in vivo chondrogenesis of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells and hyaluronic acid hydrogel composite / Y. B. Park [et al.] // *Osteoarthritis Cartilage.* 2017 Apr. Vol. 25, N 4. P. 570–580. doi: 10.1016/j.joca.2016.10.012
14. Caplan, A. I. MSCs: the sentinel and safe-guards of injury / A. I. Caplan // *J. Cell. Physiol.* 2016 Jul. Vol. 231, N 7. P. 1413–1416. doi: 10.1002/jcp.25255
15. Mesenchymal Stem Cell Migration and Tissue Repair / X. Fu [et al.] // *Cells.* 2019 Jul. Vol. 8, N 8. P. 784. doi: 10.3390/cells8080784
16. Sequential zonal chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells in cartilage matrices / S. Moeinzadeh [et al.] // *Tissue Eng. Part A.* 2019 Feb. Vol. 25, N 3/4. P. 234–247. doi: 10.1089/ten.TEA.2018.0083
17. The regulatory role of signaling crosstalk in hypertrophy of mscs and human articular chondrocytes / L. Zhong [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* 2015 Aug. Vol. 16, N 8. P. 19225–19247. doi: 10.3390/ijms160819225
18. Jin, G.-Z. Chondrogenic potential of dedifferentiated rat chondrocytes reevaluated in two- and three-dimensional culture conditions / G.-Z. Jin, H.-W. Kim // *Tissue Eng. Regen. Med.* 2018 Nov. Vol. 15, N 2. P. 163–172. doi: 10.1007/s13770-017-0094-6
19. Analysis of the effects of five factors relevant to in vitro chondrogenesis of human mesenchymal stem cells using factorial design and high throughput mRNA-profiling / R. B. Jakobsen [et al.] // *PLoS One.* 2014 May. Vol. 9, N 5. Art. e96615. doi: 10.1371/journal.pone.0096615
20. Correlation of COL10A1 induction during chondrogenesis of mesenchymal stem cells with demethylation of two CpG sites in the COL10A1 promoter / P. Zimmermann [et al.] // *Arthritis Rheum.* 2008 Sep. Vol. 58, N 9. P. 2743–2753. doi: 10.1002/art.23736
21. Independent chondrogenic potential of canine bone marrow-derived mesenchymal stem cells in monolayer expansion cultures decreases in a passage-dependent pattern / E. C. Bwalya [et al.] // *J. Vet. Med. Sci.* 2018 Nov. Vol. 80, N 11. P. 1681–1687. doi: 10.1292/jvms.18-0202
22. Coculture of human mesenchymal stem cells and articular chondrocytes reduces hypertrophy and enhances functional properties of engineered cartilage / L. Bian [et al.] // *Tissue*

- Eng. Part. A. 2011 Apr. Vol. 17, N 7/8. P. 1137–1145. doi: 10.1089/ten.TEA.2010.0531
23. Conditioned medium from chondrocyte/scaffold constructs induced chondrogenic differentiation of bone marrow stromal cells / J. Liu [et al.] // Anat. Rec. (Hoboken). 2012 Jul. Vol. 295, N 7. P. 1109–1116. doi: 10.1002/ar.22500
  24. Шахпазян, Н. К. Мезенхимальные стволовые клетки из различных тканей человека: биологические свойства, оценка качества и безопасности для клинического применения / Н. К. Шахпазян, Т. А. Астрелина, М. В. Яковлева // Гены и клетки. 2012. Т. 7, № 1. С. 23–33.
  25. Comparison of molecular profiles of human mesenchymal stem cells derived from bone marrow, umbilical cord blood, placenta and adipose tissue / J. S. Heo [et al.] // Int. J. Mol. Med. 2016 Jan. Vol. 37, N 1. P. 115–125. doi: 10.3892/ijmm.2015.2413
  26. Human Mesenchymal Stem Cells Derived from Bone Marrow Display a Better Chondrogenic Differentiation Compared with Other Sources / M. E. Bernardo [et al.] // Connect. Tissue Res. 2007. Vol. 48, N 3. P. 132–140. doi: 10.1080/03008200701228464
  27. Chondrogenesis from Human Placenta-Derived Mesenchymal Stem Cells in Three-Dimensional Scaffolds for Cartilage Tissue Engineering / S. Hsu [et al.] // Tissue Eng. Part. A. 2011 Jun. Vol. 17, N 11/12. P. 1549–1560. doi: 10.1089/ten.TEA.2010.0419
  28. Isolation and comparative analysis of potential stem/progenitor cells from different regions of human umbilical cord / N. Beeravolu [et al.] // Stem. Cell. Res. 2016 May. Vol. 16, N 3. P. 696–711. doi: 10.1016/j.scr.2016.04.010
  29. Хондрогенный и остеогенный потенциал мезенхимальных стволовых клеток костного мозга и плаценты / А. А. Жерносеченко [и др.] // Вес. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. 2021. Т. 18, № 1. С. 36–44. doi:10.29235/1814-6023-2021-18-1-36-45
  30. Bornes, T. D. Mesenchymal stem cells in the treatment of traumatic articular cartilage defects: a comprehensive review / T. D. Bornes, A. B. Adesida, N. M. Jomha // Arthritis Res. Ther. 2014. Vol. 16, N 5. Art. 432 doi: 10.1186/s13075-014-0432-1
  31. Autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells versus autologous chondrocyte implantation: an observational cohort study / H. Nejadnik [et al.] // Am. J. Sports Med. 2010 Jun. Vol. 38, N 6. P. 1110–1116. doi: 10.1177/0363546509359067
  32. Repair of Osteochondral Defects With Predifferentiated Mesenchymal Stem Cells of Distinct Phenotypic Character Derived From a Nanotopographic Platform / Y. Wu [et al.] // Am. J. Sports Med. 2020 Jun. Vol. 48, N 7. P. 1735–1747. doi: 10.1177/0363546520907137
  33. Matrix-Associated Implantation of Predifferentiated Mesenchymal Stem Cells Versus Articular Chondrocytes: In Vivo Results of Cartilage Repair After 1 Year / B. Marquass [et al.] // Am. J. Sports Med. 2011 Jul. Vol. 39, N 7. P. 1401–1412. doi: 10.1177/0363546511398646
  34. Repair of chronic osteochondral defects using predifferentiated mesenchymal stem cells in an ovine model / M. Zscharnack [et al.] // Am. J. Sports Med. 2010 Sep. Vol. 38, N 9. P. 1857–1869. doi: 10.1177/0363546510365296
  35. Bornes, T. D. Articular Cartilage Repair with Mesenchymal Stem Cells After Chondrogenic Priming: A Pilot Study / T. D. Bornes, A. B. Adesida, N. M. Jomha // Tissue Eng. Part. A. 2018 May. Vol. 24, N 9/10. P. 761–774. doi: 10.1089/ten.TEA.2017.0235
  36. Аутотрансплантация мезенхимальных стволовых клеток для регенеративного восстановления повреждений суставного хряща (экспериментальное исследование) / Д. В. Букач [и др.] // Вес. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. 2015. № 1. С. 5–11.
  37. Comparison of Undifferentiated Versus Chondrogenic Predifferentiated Mesenchymal Stem Cells Derived From Human Umbilical Cord Blood for Cartilage Repair in a Rat Model / Y.-B. Park [et al.] // Am. J. Sports Med. 2019 Feb. Vol. 47, N 2. P. 451–461. doi: 10.1177/0363546518815151
  38. A preliminary study comparing the use of allogenic chondrogenic pre-differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells for the repair of full thickness articular cartilage defects in rabbits / H. Dashtdar [et al.] // J. Orthop. Res. 2011 Sep. Vol. 29, N 9. P. 1336–1342. doi: 10.1002/jor.21413

Поступила 14.02.2023 г.

Принята в печать 17.04.2023 г.

## References

1. Friedenstein AJ, Chailakhjan RK, Lalykina KS. The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells. Cell Tissue Kinet. 1970 Oct;3(4):393-403. doi: 10.1111/j.1365-2184.1970.tb00347.x
2. Caplan AI. Mesenchymal stem cells. J Orthop Res. 1991 Sep;9(5):641-50. doi: 10.1002/jor.1100090504
3. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. Cytotherapy. 2006;8(4):315-7. doi: 10.1080/14653240600855905
4. Zhuang W-Z, Lin Y-H, Su L-J, Wu M-S, Jeng H-Y, Chang H-C, et al. Mesenchymal stem/stromal cell-based therapy: mechanism, systemic safety and biodistribution for precision clinical applications. J Biomed Sci. 2021 Apr 14;28(1):28. doi: 10.1186/s12929-021-00725-7
5. Busser H, Najjar M, Raicevic G, Pieters K, Velez Pombo R, Philippart P, et al. Isolation and characterization of human mesenchymal stromal cell subpopulations: comparison of bone marrow and adipose tissue. Stem Cells Dev. 2015 Sep;24(18):2142-57. doi: 10.1089/scd.2015.0172
6. Robert AW, Marcon BH, Dallagiovanna B, Shigunov P. Adipogenesis, osteogenesis, and chondrogenesis of human mesenchymal stem/stromal cells: a comparative transcriptome approach. Front Cell Dev Biol. 2020 Jul;8:561. doi: 10.3389/fcell.2020.00561
7. Camarero-Espinosa S, Rothen-Rutishauser B, Foster EJ, Weder C. Articular cartilage: from formation to tissue engineering. Biomater Sci. 2016 May;4(5):734-67. doi: 10.1039/c6bm00068a
8. Zhong L, Huang X, Karperien M, Post JN. The regulatory role of signaling crosstalk in hypertrophy of mscs and human articular chondrocytes. Int J Mol Sci. 2015 Aug;16(8):19225-47. doi: 10.3390/ijms160819225
9. Augustyniak E, Trzeciak T, Richter M, Kaczmarczyk J,

- Suchorska W. The role of growth factors in stem cell-directed chondrogenesis: a real hope for damaged cartilage regeneration. *Int Orthop*. 2015 May;39(5):995-1003. doi: 10.1007/s00264-014-2619-0
10. Quintana LS, zur Nieden NI, Semino CE. Morphogenetic and regulatory mechanisms during developmental chondrogenesis: new paradigms for cartilage tissue engineering. *Tissue Eng Part B Rev*. 2009 Mar;15(1):29-41. doi: 10.1089/ten.teb.2008.0329
  11. Hidaka C, Goldring MB. Regulatory mechanisms of chondrogenesis and implications for understanding articular cartilage homeostasis. *Current Rheumatol Rev*. 2008;4(3):136-47. doi: 10.2174/157339708785133541
  12. Johnstone B, Hering TM, Caplan AI, Goldberg VM, Yoo JU. In vitro chondrogenesis of bone marrow-derived mesenchymal progenitor cells. *Exp Cell Res*. 1998 Jan;238(1):265-72. doi: 10.1006/excr.1997.3858
  13. Park YB, Ha CW, Kim JA, Han WJ, Rhim JH, Lee HJ, et al. Single-stage cell-based cartilage repair in a rabbit model: cell tracking and in vivo chondrogenesis of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells and hyaluronic acid hydrogel composite. *Osteoarthritis Cartilage*. 2017 Apr;25(4):570-80. doi: 10.1016/j.joca.2016.10.012
  14. Caplan AI. MSCs: the sentinel and safe-guards of injury. *J Cell Physiol*. 2016 Jul;231(7):1413-6. doi: 10.1002/jcp.25255
  15. Fu X, Liu G, Halim A, Ju Y, Luo Q, Song AG. Mesenchymal Stem Cell Migration and Tissue Repair. *Cells*. 2019 Jul;8(8):784. doi: 10.3390/cells8080784
  16. Moeinzadeh S, Monavarian M, Kader S, Jabbari E. Sequential zonal chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells in cartilage matrices. *Tissue Eng Part A*. 2019 Feb;25(3-4):234-47. doi: 10.1089/ten.TEA.2018.0083
  17. Zhong L, Huang X, Karperien M, Post JN. The regulatory role of signaling crosstalk in hypertrophy of mscs and human articular chondrocytes. *Int J Mol Sci*. 2015 Aug;16(8):19225-47. doi: 10.3390/ijms160819225
  18. Jin G-Z, Kim H-W. Chondrogenic potential of dedifferentiated rat chondrocytes reevaluated in two- and three-dimensional culture conditions. *Tissue Eng Regen Med*. 2017 Nov;15(2):163-72. doi: 10.1007/s13770-017-0094-6
  19. Jakobsen RB, Østrup E, Zhang X, Mikkelsen TS, Brinchmann JE. Analysis of the effects of five factors relevant to in vitro chondrogenesis of human mesenchymal stem cells using factorial design and high throughput mRNA-profiling. *PLoS One*. 2014 May;9(5):e96615. doi: 10.1371/journal.pone.0096615
  20. Zimmermann P, Boeuf S, Dickhut A, Boehmer S, Olek S, Richter W. Correlation of COL10A1 induction during chondrogenesis of mesenchymal stem cells with demethylation of two CpG sites in the COL10A1 promoter. *Arthritis Rheum*. 2008 Sep;58(9):2743-53. doi: 10.1002/art.23736
  21. Bwalya EC, Wijekoon HS, Fang J, Kim S, Hosoya K, Okumura M. Independent chondrogenic potential of canine bone marrow-derived mesenchymal stem cells in monolayer expansion cultures decreases in a passage-dependent pattern. *J Vet Med Sci*. 2018 Nov;80(11):1681-7. doi: 10.1292/jvms.18-0202
  22. Bian L, Zhai DY, Mauck RL, Burdick JA. Coculture of human mesenchymal stem cells and articular chondrocytes reduces hypertrophy and enhances functional properties of engineered cartilage. *Tissue Eng Part A*. 2011 Apr;17(7-8):1137-45. doi: 10.1089/ten.TEA.2010.0531
  23. Liu J, Liu X, Zhou G, Xiao R, Cao Y. Conditioned medium from chondrocyte/scaffold constructs induced chondrogenic differentiation of bone marrow stromal cells. *Anat Rec (Hoboken)*. 2012 Jul;295(7):1109-16. doi: 10.1002/ar.22500
  24. Shakhpazyan NK, Astrelina TA, Yakovleva MV. Mesenchymal stem cells from different human tissues: biological properties, quality and safety assessment for clinical use. *Geny Kletki*. 2012;7(1):23-33. (In Russ.)
  25. Heo JS, Choi Y, Kim H-S, Kim HO. Comparison of molecular profiles of human mesenchymal stem cells derived from bone marrow, umbilical cord blood, placenta and adipose tissue. *Int J Mol Med*. 2016 Jan;37(1):115-25. doi: 10.3892/ijmm.2015.2413
  26. Bernardo ME, Emons JAM, Karperien M, Nauta AJ, Willemze R, Roelofs H, et al. Human Mesenchymal Stem Cells Derived from Bone Marrow Display a Better Chondrogenic Differentiation Compared with Other Sources. *Connect Tissue Res*. 2007;48(3):132-40. doi: 10.1080/03008200701228464
  27. Hsu S, Huang T-B, Cheng S-J, Weng S-Y, Tsai C-L, Tseng C-S, et al. Chondrogenesis from Human Placenta-Derived Mesenchymal Stem Cells in Three-Dimensional Scaffolds for Cartilage Tissue Engineering. *Tissue Eng Part A*. 2011 Jun;17(11-12):1549-60. doi: 10.1089/ten.TEA.2010.0419
  28. Beeravolu N, Khan I, McKee C, Dinda S, Thibodeau B, Wilson G, et al. Isolation and comparative analysis of potential stem/progenitor cells from different regions of human umbilical cord. *Stem Cell Res*. 2016 May;16(3):696-711. doi: 10.1016/j.scr.2016.04.010
  29. Zhernosechenko AA, Isaykina YaI, Filipovich TV, Lyakh EG. Chondrogenic and osteogenic potential of bone marrow and placental mesenchymal stem cells. *Ves Nats Akad Navuk Belarusi Ser Med Navuk*. 2021;18(1):36-44. doi:10.29235/1814-6023-2021-18-1-36-45. (In Russ.)
  30. Bornes TD, Adesida AB, Jomha NM. 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
  31. Nejadnik H, Hui JH, Choong EPF, Tai B-C, Lee EH. Autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells versus autologous chondrocyte implantation: an observational cohort study. *Am J Sports Med*. 2010 Jun;38(6):1110-6. doi: 10.1177/0363546509359067
  32. Wu Y, Yang Z, Denslin V, Ren XF, Lee CS, Yap FL, et al. Repair of Osteochondral Defects With Predifferentiated Mesenchymal Stem Cells of Distinct Phenotypic Character Derived From a Nanotopographic Platform. *Am J Sports Med*. 2020 Jun;48(7):1735-47. doi: 10.1177/0363546520907137
  33. Marquass B, Schulz R, Hepp P, Zscharnack M, Aigner T, Schmidt S, et al. Matrix-Associated Implantation of Predifferentiated Mesenchymal Stem Cells Versus Articular Chondrocytes: In Vivo Results of Cartilage Repair After 1 Year. *Am J Sports Med*. 2011 Jul;39(7):1401-12. doi: 10.1177/0363546511398646
  34. Zscharnack M, Hepp P, Richter R, Aigner T, Schulz R, Somerson J, et al. Repair of chronic osteochondral defects using predifferentiated mesenchymal stem cells in an ovine model. *Am J Sports Med*. 2010 Sep;38(9):1857-69. doi: 10.1177/0363546510365296
  35. Bornes TD, Adesida AB, Jomha NM. Articular Cartilage Repair with Mesenchymal Stem Cells After Chondrogenic Priming: A Pilot Study. *Tissue Eng Part A*. 2018 May;24(9-10):761-74. doi: 10.1089/ten.TEA.2017.0235
  36. Bukach DV, Beletskiy AV, Eysmont OL, Mokhammad MT,



- Isaykina YaI. Autotransplantation of mesenchymal stem cells for regenerative repair of articular cartilage damage (experimental study). *Ves Nats Akad Navuk Belarusi Ser Med Navuk.* 2015;(1):5-11. (In Russ.)
37. Park Y-B, Ha C-W, Kim J-A, Kim S, Park Y-G. Comparison of Undifferentiated Versus Chondrogenic Predifferentiated Mesenchymal Stem Cells Derived From Human Umbilical Cord Blood for Cartilage Repair in a Rat Model. *Am J Sports Med.* 2019 Feb;47(2):451-61. doi: 10.1177/0363546518815151
38. Dashtdar H, Rothan HA, Tay T, Ahmad RE, Ali R, Tay LX, et al. A preliminary study comparing the use of allogenic chondrogenic pre-differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells for the repair of full thickness articular cartilage defects in rabbits. *J Orthop Res.* 2011 Sep;29(9):1336-42. doi: 10.1002/jor.21413

*Submitted 14.02.2023*

*Accepted 17.04.2023*

#### **Сведения об авторах:**

А.А. Жерносеченко – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клеточных биотехнологий и цитотерапии, Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии; ассистент кафедры детской эндокринологии, клинической генетики и иммунологии, Белорусский государственный медицинский университет,

e-mail: sapphire.anna@gmail.com – Жерносеченко Анна Александровна;

Я.И. Исайкина – к.б.н., зав. лабораторией клеточных биотехнологий и цитотерапии, Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии;

Е.Г. Лях – старший научный сотрудник лаборатории клеточных биотехнологий и цитотерапии, Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии.

#### **Information about authors:**

H.A. Zhernasechanka – Candidate of Biological Sciences, senior research officer of the Laboratory of Cellular Biotechnologies and Cytotherapy, Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology; lecturer of the Department of Pediatric Endocrinology; lecturer of the Chair of Pediatric Endocrinology, Clinical Genetics and Immunology, Belarusian State Medical University,

e-mail: sapphire.anna@gmail.com – Hanna A. Zhernasechanka;

Y.I. Isaikina – Candidate of Biological Sciences, head of the Laboratory of Cellular Biotechnologies and Cytotherapy, Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology; lecturer of the Department of Pediatric Endocrinology;

E.G. Liakh – senior research officer of the Laboratory of Cellular Biotechnologies and Cytotherapy, Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology; lecturer of the Department of Pediatric Endocrinology.