

DOI: <https://doi.org/10.17816/gc606639>

Применение гидрогелевых скаффолдов в качестве носителя клеток для восстановления хрящевой ткани

П.А. Голубинская, А.С. Пикина, Е.С. Ручко, Т.В. Владимирова, А.Н. Богомазова, А.В. Еремеев

Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина Федерального медико-биологического агентства России, Москва, Россия

АННОТАЦИЯ

В настоящее время одной из потенциально эффективных стратегий восстановления дефектов хрящевой ткани выступают методы клеточной терапии, или тканевой инженерии. Для тканевой инженерии наиболее часто используются мезенхимальные стромальные клетки, также применяют аутологичные и аллогенные хондроциты, полученные из биоптатов хрящевой ткани пациентов при артроскопической операции. Успешной имплантации клеток могут способствовать матрицы (скаффолды), которые представляют собой статичные структуры-подложки или пластичные гидрогелевые субстанции, получаемые различными методами из природных или синтетических материалов и позволяющие доставлять клетки к месту повреждения инъекционно. Существенные преимущества биосовместимых гидрогелей при клеточной терапии повреждений хряща определяются свойствами природного внеклеточного матрикса и высокой пластичностью, необходимой для адаптации к неровным поверхностям тканевого дефекта и позволяющей обеспечить инъекционную доставку клеток. Эти характеристики делают инъекционные гидрогели многообещающим инструментом для биоинженерии хрящевой ткани.

В обзоре освещены успехи исследований инъекционных гидрогелей в качестве носителей различных типов клеток при восстановлении дефектов хрящевой ткани, а также существующие требования и нерешённые вопросы, связанные с использованием подобных терапевтических подходов.

Ключевые слова: тканевая инженерия; хондрогенез; 3D-клеточные структуры; скаффолды; гидрогели.

Как цитировать:

Голубинская П.А., Пикина А.С., Ручко Е.С., Владимирова Т.В., Богомазова А.Н., Еремеев А.В. Применение гидрогелевых скаффолдов в качестве носителя клеток для восстановления хрящевой ткани // Гены и клетки. 2024. Т. 19, № 1. С. 43–59. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc606639>

DOI: <https://doi.org/10.17816/gc606639>

Application of hydrogel scaffolds as a cell substrate for cartilage tissue regeneration

Polina A. Golubinskaya, Arina S. Pikina, Eugene S. Ruchko, Tatiana V. Vladimirova, Alexandra N. Bogomazova, Artem V. Ereemeev

Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

ABSTRACT

Cell therapy or tissue engineering is currently one of the potentially effective strategies for repairing cartilage defects. Mesenchymal stromal cells and autologous and allogeneic chondrocytes obtained from cartilage biopsies from patients undergoing arthroscopic surgery are the most commonly used cells for tissue engineering. Matrices (scaffolds) often used during cell implantation can facilitate successful cell implantation. These can be static supporting or plastic hydrogel substances obtained by various methods from natural or synthetic materials, allowing cells to be delivered to the site damaged by injection. Significant advantages of biocompatible hydrogels in cartilage injury therapy are determined based on the properties of the natural extracellular matrix and the high plasticity required for adapting to irregular surfaces of the tissue defect and allowing injectable cell delivery. These characteristics make injectable hydrogels a promising tool for cartilage bioengineering.

This study highlights the progress in injectable hydrogels as carriers of different cells in the repair of cartilage tissue defects, as well as the current requirements and unresolved issues related to the use of such therapeutic approaches.

Keywords: tissue engineering; chondrogenesis; 3D cell structures; scaffolds; hydrogels.

To cite this article:

Golubinskaya PA, Pikina AS, Ruchko ES, Vladimirova TV, Bogomazova AN, Ereemeev AV. Application of hydrogel scaffolds as a cell substrate for cartilage tissue regeneration. *Genes & cells*. 2024;19(1):43–59. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc606639>

Received: 06.10.2023

Accepted: 25.11.2023

Published online: 10.02.2024

ВВЕДЕНИЕ

Остеоартроз является распространённым дегенеративным заболеванием гиалинового суставного хряща, возникающим вследствие механических травм, ожирения или старения. При остеоартрозе внутри сустава происходит деградация внеклеточного матрикса (ВКМ), хрящ истончается, его поверхность подвергается эрозии, развивается синовиальное воспаление. На клиническом уровне эти процессы проявляются в болевом синдроме и радикальном снижении подвижности сустава. Для лечения тяжёлых повреждений хряща, например при остеоартрите коленного сустава, во всём мире используют хирургические методы: артроскопические операции, остеотомию коленного сустава и тотальное эндопротезирование. Однако искусственные суставы имеют ограниченный срок службы и часто требуют дополнительного хирургического вмешательства при ревизии эндопротеза [1]. По этой причине к настоящему времени предложено несколько стратегий активации репараторных процессов для восстановления суставного хряща на этапе его очаговых дефектов, которые выявляются во время артроскопии почти в 20% случаев [2].

МЕТОДЫ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ СУСТАВНОГО ХРЯЩА

Как известно, хрящевая ткань обладает минимальной эндогенной способностью к восстановлению, поскольку гиалиновый хрящ суставов получает питательные вещества диффузно из синовиальной жидкости [3]. Из-за недостатка кровоснабжения повреждения гиалинового

суставного хряща при отсутствии надлежащего лечения могут вести к ранней дегенерации сустава [4]. Одним из успешных подходов к активации регенерации сустава является метод микропереломов, или микрофрактурирования, предложенный в 1985 году R. Steadman. В этом подходе после удаления повреждённых участков сустава и кальциатов хирург производит множественные проколы суставной поверхности, что позволяет содержимому костного мозга выступить на поверхность. Мезенхимальные стромальные клетки (МСК) костного мозга, попавшие через проколы на суставную поверхность, помогают заместить её дефект за счёт своей способности дифференцироваться в хондрогенном направлении.

В течение последних десятилетий в клиническую практику было внедрено несколько методов восстановления хрящевой ткани, основанных на принципах регенеративной медицины с использованием многокомпонентных биомедицинских продуктов. К ним прежде всего относятся бесклеточные продукты, приготовленные из плазмы крови, а также содержащие полисахариды; ВКМ, синтетические полимеры. В регенеративной терапии остеоартроза также используют биомедицинские клеточные продукты, содержащие хондроциты или МСК, которые могут вноситься внутрь сустава в виде клеточной суспензии или на носителе (рис. 1).

В качестве терапии остеоартроза и улучшения снабжения хряща питательными веществами было предложено вводить в коленный сустав аутологичную богатую тромбоцитами плазму (*англ.* platelet rich plasma, PRP). Такая терапия безопасна и может уменьшить боль и улучшить функцию сустава [5]. Однако эффективность использования PRP для лечения дефекта хряща остаётся спорной [6, 7]. Различия в концентрации тромбоцитов,

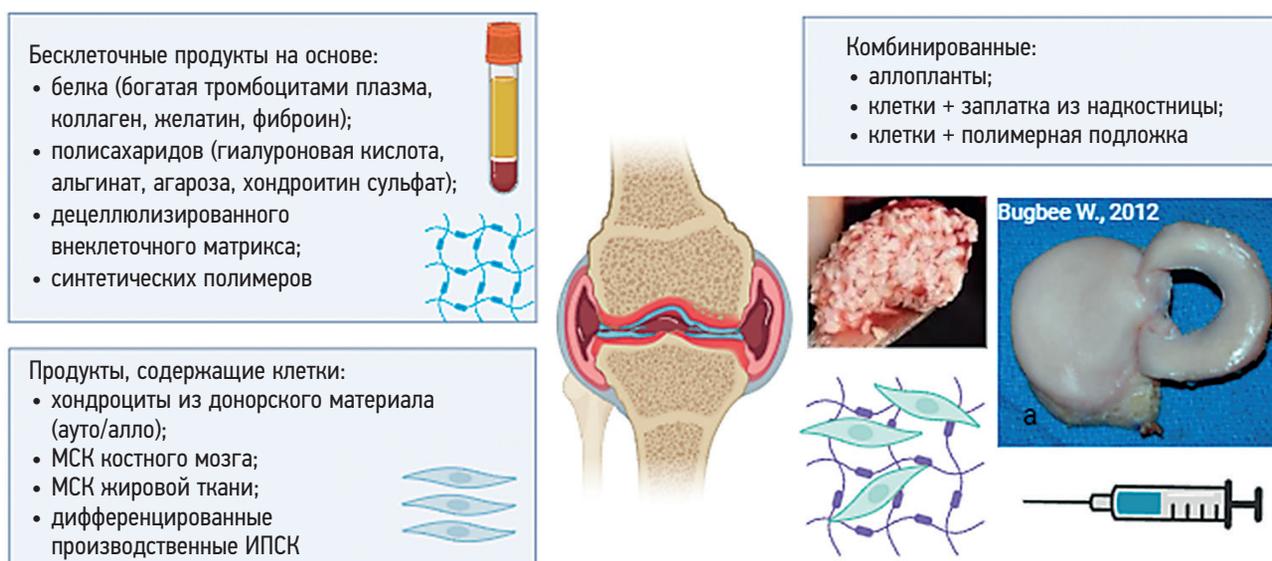


Рис. 1. Типы продуктов для терапии поражений хрящевой ткани. МСК — мезенхимальные стромальные клетки, ИПСК — индуцированные плюрипотентные клетки.

Fig. 1. Types of products for the treatment of cartilage defects. МСК — mesenchymal stromal cells, ИПСК — induced pluripotent cells.

обеспечиваемые разными протоколами подготовки, могут иметь большое влияние на клинические результаты. Кроме того, содержание факторов роста в тромбоцитах отличается у разных людей, что может оказывать эффект на процесс заживления [8].

Одним из первых методов клеточной регенеративной медицины является трансплантация аутологичных хондроцитов (ACI, англ. autologous chondrocyte implantation), впервые описанная в 1994 году. С тех пор метод ACI постоянно совершенствовался и в настоящее время используется в качестве стандартной процедуры для лечения больших дефектов (>3 см²) коленного сустава [9]. Помимо хондроцитов в терапии коленного сустава в последнее время всё чаще используются МСК из разных тканевых источников. МСК можно дифференцировать в различные типы клеток, в том числе в хондроциты. Эти клетки также демонстрируют превосходную способность регенерировать повреждённый хрящ и обеспечивать клинически значимое уменьшение симптомов заболевания опорно-двигательного аппарата как за счёт заполнения тканевого дефекта, так и за счёт секреции коктейля из биологически активных веществ (БАВ) и факторов роста, обладающих противовоспалительным действием. Согласно данным метаанализа [1], терапия с применением МСК эффективна в уменьшении боли и улучшении клинических симптомов остеоартроза.

Дальнейшим развитием технологии ACI стало применение в трансплантации хондроцитов на подложке, в качестве которой вначале использовали лоскут надкостницы, а затем — искусственные коллагеновые мембраны и 3D-матрицы. Данная технология получила название MACI (англ. membrane autologous chondrocyte implantation) [10]. Для большинства клеток, культивируемых в прикрепленном состоянии, например МСК, показано, что выживаемость клеток на подложке гораздо выше при имплантации, чем при инъекции в виде суспензионного раствора [11]. Трёхмерные каркасы, используемые при MACI, могут быть адаптированы к размеру и форме дефекта и способны уменьшить потери культивируемых на них клеток после имплантации. Наиболее часто в MACI применяют мембрану из коллагенов I/III типов с культивируемыми на ней аутологичными хондроцитами [12], хотя в ряде работ показано, что добавление коллагена II типа в мембрану улучшает поддержку фенотипа хондроцитов, усиливает пролиферацию и синтез ВКМ [13]. Мембрана имеет шероховатую сторону, на которой располагаются хондроциты, и гладкую, более плотную сторону, которая обращена в суставную полость, что препятствует миграции клеток в эту полость [14, 15]. Шероховатая сторона имеет больший размер пор по сравнению с гладкой, характеризуется более рыхлым расположением коллагеновых волокон, что облегчает прикрепление хондроцитов и последующий синтез ВКМ [16].

Технология MACI имеет ряд ограничений. Например, головка бедренной кости исключает применение

жёстких каркасов, тогда как голеностопный сустав, как правило, нуждается в гораздо более инвазивных подходах, например остеотомии [17]. Кроме того, большинство матриц, используемых в MACI, должны быть зафиксированы в области трансплантации с помощью ксеногенного фиксирующего материала, который может вызывать иммунный ответ и снижать скорость приживления.

В 2002 году была представлена инновационная трёхмерная система культивирования аутологичных хондроцитов без каркаса, которая полностью исключает использование ксеногенного материала при трансплантации. В процессе трёхмерного культивирования создаются сфероиды неохряща, состоящие из редифференцированных аутологичных хондроцитов и специфического для хряща матрикса. Технология трансплантации аутологичных хондроцитов в сфероидах получила название ACT3D (англ. 3-dimensional, scaffold-free, and completely autologous form of chondrocyte transplantation). Как и другие методы ACI, ACT3D требует двухэтапной хирургической процедуры. На первом этапе из поражённого сустава берут образец хрящевой ткани с целью получения необходимого количества клеток для культивирования *in vitro*. Во время второй операции хондроциты в виде сфероидов имплантируют в место дефекта. Сферическая структура продукта подразумевает определённые преимущества по сравнению с ACI или MACI. Поскольку хондроциты в 3D-структурах дифференцируются и начинают продуцировать ВКМ, они уже находятся в более активном «правильном» состоянии по сравнению с клетками в виде суспензии при ACI, поэтому хондросфера может быстрее заполнить дефект гиалиновым хрящом. Сфероиды легко помещаются в повреждённый участок при артроскопии, прикрепляются к субхондральной кости и нативной хрящевой ткани без дополнительного фиксирующего материала. Метод ACT3D показал многообещающие результаты *in vivo* на нескольких животных моделях и используется в клинической практике с 2004 года [18, 19].

Следует отметить, что указанные выше виды клеточных продуктов успешно коммерциализируются (табл. 1). В литературе описаны готовые продукты для терапии повреждений хряща, среди которых наиболее часто упоминаются Hyalograft® C (Anika Therapeutics Inc, США; Fidia Farmaceutici S.p.A., Италия) и мембрана MACI® Chondro-gide® (Genzyme Biosurgery, Дания) [12]. Кроме указанных продуктов применяют BioSeed-C® (BioTissue Technologies, Германия), систему регенерации хряща CaReS® (Arthro Kinetics Biotechnology, Австрия), ателоколлаген (RMS Innovations UK, Великобритания), NOVOCART® 3D (Aesculap Implant Systems LLC, США), костно-хрящевой биомиметический каркас NeoCartm (Histogenics, США), Chondron™ (Sewon Cellontech, Корея), DeNovo NT Graft (Zimmer Biomet, США), Cartipatch® (Tissue Bank of France, Франция)

Таблица 1. Примеры коммерческих клеточных продуктов для терапии поражений хрящевой ткани
Table 1. Examples of commercial cell products for the treatment of cartilage defects

Тип продукта	Примеры продуктов
ACI	Продукты на основе аутологичных хондроцитов без подложки: Carticel (Genzyme Inc, США); ChondroCelect (TiGenix N.V., Бельгия)
ACT3D	Хондросфера Chondrosphere® (Co.Don AG, Германия)
MACI	Продукты на основе аутологичных хондроцитов, включают жёсткую подложку для клеток: Мембрана MACI® Chondro-gide® (Genzyme Biosurgery, Дания); Chondron™ (Sewon Cellontech, Корея); DeNovo NT Graft (Zimmer Biomet, США); Cartipatch® (Tissue Bank of France, Франция); Hyalograft® C (Fidia Farmaceutici S.p.A., Италия; Anika Therapeutics Inc, США); BioSeed-C® (BioTissue Technologies, Германия); Ortho-ACI (Orthocell, Австралия)

и Condrograft (BR Medical, Мексика), Chondrosphere® (Spherox) (CO.DON AG, Германия) [12, 20]. Следует отметить, что Hyalograft® C был недавно удалён с европейского рынка Европейской медицинской ассоциацией в результате проблем с производственными процессами и дизайном клинических исследований.

Начиная с первого десятилетия XXI века изучается возможность использования в качестве клеточной подложки гидрогелей, которые представляют собой сеть сшитых поперечными связями гидрофильных полимерных цепей в водной дисперсионной среде. Гидрогели могут представлять собой пластичную, биосовместимую, биорезорбируемую подложку для клеток, имитирующую ВКМ. Можно также применять различные комбинации состава гидрогеля для достижения определённых механических свойств, в том числе моделировать градиентную структуру подложки, добавлять лекарственные средства и БАВ. Особенную привлекательность гидрогелям придаёт возможность их использования в инъекционной форме [21]. Несмотря на интенсивные исследования в этой области, в настоящее время нет коммерческих продуктов, в которых бы использовали гидрогели в качестве подложки. В настоящем обзоре собрана актуальная информация, раскрывающая возможности восстановления хрящевой ткани с помощью трансплантации клеток на гидрогелевой подложке.

ИМПЛАНТАЦИЯ КЛЕТОК НА ПОДЛОЖКЕ/ГИДРОГЕЛЕ

При имплантации клетки могут быть дополнены биосовместимыми скаффолдами-матрицами, которые не только способствуют удержанию клеток в хрящевом дефекте, но и обеспечивают каркас для формирования структурированной гиалиноподобной ткани [22], содержат в своём составе БАВ, включают компоненты клеточного секрета или экзосомы [23, 24].

Использование гидрогеля в качестве матрицы является наиболее многообещающим методом лечения повреждённой хрящевой ткани, поскольку может заменить и упростить пересадку жёстких имплантатов минимально инвазивными инъекциями [25–28]. Гидрогели, широко используемые в тканевой инженерии, представляют собой сшитые трёхмерные гидрофильные полимерные биоматериалы с уникальными свойствами, такими как высокое содержание воды, биосовместимость, пористость, способность к биодеградации и пластичность [29, 30]. Свойства гидрогеля могут быть подобраны аналогично характеристикам ВКМ хряща, и его можно приготовить *in situ*. Следовательно, преимущества гидрогеля заключаются в меньшей инвазивности; в меньшем количестве осложнений (и соответственно более коротком пребывании пациента в стационаре); в формировании любой необходимой формы в соответствии с дефектом ткани [31, 32].

Считается, что идеальный каркас для регенерации хряща должен обеспечивать достаточную механическую прочность, контролируемую способность к биодеградации, адгезию и интеграцию с окружающей нативной тканью. При этом такой каркас должен имитировать естественные функции ВКМ, которые обеспечивают диффузию питательных веществ и способствуют выживанию и дифференцировке клеток [33]. Например, в исследовании *in vitro* МСК костного мозга, инкапсулированных в гидрогель хондроитин сульфат-тирамин-желатин (CS-Tyr/Gel), показана превосходная биоинтеграция на эксплантатах хряща. При этом умеренная механическая нагрузка стимулировала хондрогенную дифференцировку МСК [34].

Новое поколение гидрогелей представляет собой полимеры, которые можно вводить в организм в жидком состоянии, а затем превращать в гель за счёт воздействия различных стимулов *in situ* [35]. Наиболее важным преимуществом подобных материалов является доставка терапевтических агентов, в данном случае клеток, с минимальной инвазивностью.

Методы полимеризации гидрогелей *in situ*

Гидрогели на основе гиалуроновой кислоты (ГК) для инъекций обычно образуются посредством химического сшивания молекул (например, с помощью фотополимеризации, клик-реакции, реакции по типу Михаэля или Шиффа [27, 36], ферментативного сшивания) или после воздействия температуры/УФ-излучения. Однако следует отметить, что время воздействия УФ-излучения должно быть точно отрегулировано для достижения желаемых механических свойств без ущерба для жизнеспособности клеток [35], и это накладывает ограничения на использование данного метода.

Таким образом, механизм сшивания молекул *in situ*, приводящий к образованию гидрогеля, может быть физическим, физико-химическим или ферментативным. Трёхмерная сеть физических гидрогелей создаётся за счёт обратимых взаимодействий, таких как водородные связи, ионные силы и силы Ван-дер-Ваальса; ковалентных взаимодействий не происходит. Поскольку химические сшивающие агенты отсутствуют, физические гидрогели легко совместимы с биомолекулами и живыми клетками. Однако поскольку точки сшивания образуются за счёт слабых взаимодействий, данные гидрогели имеют низкую стабильность и плохие механические свойства. Обратимость их образования может быть полезной в тканевой инженерии, поскольку гидрогели способны реагировать на локальные изменения pH или концентрации веществ в организме, высвобождая инкапсулированные клетки и молекулы БАВ [37].

Некоторые полимеры, такие как агароза, каррагинан, желатин, эластин и коллаген, при изменении температуры переходят из жидкого состояния в твёрдое. Этот тип гидрогеля называется термочувствительным. Гелеобразование в нём происходит при повышении или понижении температуры. Температура перехода может быть верхней критической температурой раствора (ВКТР) или нижней критической температурой раствора (НКТР). Для полимеров с ВКТР гелеобразование происходит при температуре ниже ВКТР [38], в то время как для полимеров с НКТР гелеобразование происходит при температуре выше НКТР. В качестве инъекционных гидрогелей на основе термической сшивки в исследованиях использовали различные полимеры, такие как коллаген, агар, агароза, желатин, хитозан [39] и гиалуронан [40].

Основным преимуществом указанных систем является обратимость в конкретных приложениях, таких как доставка лекарств. Как только гидрогель оказывается внутри ткани, матрица разрушается под воздействием температуры тела, а клетки или БАВ высвобождаются из гидрогеля [37].

К физико-химическим способам образования гидрогеля относится фотоиндукция: при воздействии света две полимерные цепи ковалентно связываются в присутствии фотоинициаторов, которые, снижая энергию фотоактивации полимерных молекул, выступают в роли

катализаторов фотохимической реакции. Реакции фотоиндуцированного сшивания обеспечивают сохранение формы гидрогелей и быстрое протекание реакции в условиях комнатной температуры. Однако интенсивность света, время воздействия и концентрация фотоинициатора являются ключевыми параметрами, которые могут повредить клетки. Известно, что длительное время воздействия и высокая интенсивность света повреждают ДНК. Ультрафиолетовый свет (290–320 нм) подходит для бесклеточных гидрогелей, поэтому видимый свет, например синий (405 нм) и зелёный (505 нм), исследуются в качестве альтернативы, поскольку их интенсивность схожа с ультрафиолетовым излучением, но при этом нет повреждающего воздействия [41]. Фотоинициатор должен быть нецитотоксичным и правильно взаимодействовать с молекулами гидрогеля при определённой длине волны. Несколько фотоинициаторов коммерчески доступны, одним из наиболее известных кандидатов считается эозин [42]. Наиболее распространёнными полимерами, используемыми в создании данной группы гидрогелей, являются полиэтиленгликоль (ПЭГ) [43], желатин [44] и гиалуронан [45].

Ферментативное сшивание — наиболее «мягкий» и совместимый с клетками процесс, так как не используются экзогенные реагенты с неизвестным эффектом на клетки [42]. Например, М.К. McHale и коллеги [46] синтезировали гидрогели для восстановления хряща на основе эластиноподобного полипептида (*англ.* elastin-like polypeptide, ELP) посредством поперечного связывания трансглутаминазой. Результаты показали высокую механическую прочность гидрогелей и сохранение фенотипа хондроцитов в течение 4-недельного периода культивирования, что свидетельствует о реструктуризации ELP за счёт экзогенной экспрессии компонентов ВКМ [46].

Примером гидрогеля, формирующегося *in situ*, может служить метакриловый желатин, нагруженный костным морфогенетическим белком 2 (*англ.* bone morphogenetic protein 2, BMP-2), факторами роста и МСК, где химическое сшивание запускается локальным воздействием УФ-излучения: жидкий раствор метакриловый желатина может быть легко введён инъекционно, последующая УФ-фотополимеризация приводит к желаемой вязкости гидрогеля. В качестве гидрогеля также можно использовать термочувствительный разветвлённый сополимер ГК и поли(N-изопропилакриламид) (pNIPAM), который при комнатной температуре представляет собой водный раствор [11]. Многообещающие результаты получены на мышах и козах при использовании термочувствительного гидрогеля из гидроксипропилхитина [47].

Гибридные гидрогели

Синтетические гидрогели могут обеспечить более жёсткую структуру, обладают воспроизводимыми и более стабильными биомеханическими свойствами, что может

быть использовано при получении гибридных гидрогелей. Например, N-акрилоилглюкозамин (AGA) добавляется в полиэтиленгликольдиакрилат (PEGDA); используют для приготовления гидрогелей и поливиниловый спирт. С другой стороны, относительно более мягкие гидрогели из натуральных материалов, таких как ГК и хондроитинсульфат (ХС), благоприятны для хондрогенеза при комбинированном использовании гидрогелей и клеток [11, 48].

Технология получения гибридных гидрогелей на основе ГК и декстрана (Декс), конъюгированного с тирамином (ТА), является многообещающим подходом к созданию продуктов для регенерации хряща. В исследованиях на животных показано, что гибридные гидрогели с 25% ГК-ТА и 75% Декс-ТА обладают высоким потенциалом в качестве инъекционных каркасов для регенерации хрящевой ткани [49]. Интересны комбинации гидрогелей не только с клетками, но и с фармакологически активными веществами. К примеру, в работах [50, 51] показано, что комбинация композитного гидрогеля с эпигаллокатехин-3-галлатом (EGCG), который, как известно, подавляет воспаление в различных типах клеток, включая хондроциты, оказывала противовоспалительный и хондропротективный эффекты на модели остеоартроза у мышей.

Хондроциты, инкапсулированные в ферментативно сшитую инъекционную биоразлагаемую гидрогелевую систему, включающую конъюгаты карбоксиметилпуллан-тирамин (СМР-ТА) и хондроитинсульфат-тирамин (ХС-ТА), показали повышенную жизнеспособность и пролиферацию. При этом матрица ХС-ТА сильнее повлияла на уровни экспрессии белков ВКМ (коллаген типа I, коллаген типа II и агрекан), чем СМР-ТА [52].

Показано, что местное введение быстро сшивающегося *in situ* гидрогеля на основе тиолированной ГК и гиперразветвлённого диакрилата полиэтиленгликоля (polyPEGDA) с МСК, полученными из жидкости для артроскопической промывки, способствует восстановлению поражений хряща у крыс [53]. Через 12 нед после имплантации в костно-хрящевой дефект у кроликов гидрогеля метакрилового желатина/метакрилатной ГК (mGL/mHA), нагруженного МСК костного мозга, наблюдалась регенерация хрящевой и субхондральной костной ткани [51, 54]. Хондроциты, инкапсулированные в гидрогель ГК/ПЭГ *in situ*, демонстрируют высокую метаболическую активность, жизнеспособность и пролиферацию [55]. В свою очередь хондроциты, инкапсулированные в гидрогель хитозан-ГК с использованием метакрилового гликольхитозана, демонстрировали превосходную пролиферацию и повышенную экспрессию ВКМ [56]. На новозеландских кроликах показано, что имплантация аутологичных хондроцитов на подложке из коллагена типа I/III Chondro-Gide или на синтетической мембране из полиэфирсульфона восстанавливает повреждённый гиалиновый хрящ [57].

В работе [58] авторы помещали хондроциты в инъекционный гидрогель, состоящий из хитозана, ГК,

силанизированной гидроксипропилметилцеллюлозы (Si-HPMC). Хондроциты хорошо пролиферировали, способствуя заживлению дефектов хряща на моделях крыс *in vivo*. Исследовали инъекционный гидрогель из ГК, полиакриловой кислоты и глутатиона с магнитными частицами. Хондроциты, иммобилизованные в данный гидрогель, пролиферировали и дифференцировались в месте повреждения хряща за счёт магнитного взаимодействия наночастиц железа и адгезии рецепторов CD44 на цепи ГК. Дефект хряща кролика регенерировал в однородный и гладкий хрящ через 8 нед после имплантации гидрогеля, а столбчатое расположение хондроцитов в глубоких слоях ткани было сходным с расположением хондроцитов в нативной ткани [59].

S. Fattahpour и соавт. [60] разработали и охарактеризовали инъекционные гидрогели метилцеллюлоза-карбоксиметилцеллюлоза-плюроник и $ZnCl_2$, содержащие мелоксикам. Данные гидрогели способствовали адгезии и пролиферации хондроцитов. В другом исследовании [61] фотосшиваемый инъекционный гидрогель серицин метакрилоил (Sericin methacryloyl), нагруженный хондроцитами через 8 нед после имплантации, успешно сформировал хрящ у кроликов. При этом регенерированный хрящ имел структуру естественной ткани.

Кроме того, были изучены инъекционные гидрогели с флуоресцентной маркировкой (*англ.* fluorescently labeled injectable hydrogels, FLIH) для наблюдения восстановления хряща в динамике. Согласно исследованию C. Onofrillo с соавт. [62], FLIH считается хорошим инструментом для мониторинга изменений инъекционных фотосшиваемых гидрогелей в структуре хрящевой ткани после введения. Продукция ВКМ после применения инъекционных гидрогелей прямо пропорционально связана со снижением флуоресценции, которая описывает скорость деградации гидрогеля. FLIH могут быть использованы в качестве системы мониторинга в реальном времени, подходящей для оценки хондрогенеза [32].

Другой биополимер — целлюлоза, состоящая из повторяющихся звеньев 1,4-β-гидроглюкозы, соединённых β-эфирными связями, перспективен для применения в биомедицине из-за растворимости в воде продуктов деградации [63–65]. Различные производные целлюлозы были исследованы для биомедицинского применения. Например, упомянутая выше НРМС (гидроксипропилметилцеллюлоза) представляет собой водорастворимую форму эфира целлюлозы, которая широко используется в биомедицине благодаря своей биосовместимости и стабильности в широком диапазоне температур и pH. Однако жёсткость гидрогеля не соответствует нативному хрящу (фундаментальное требование при создании идеального каркаса для клеток). Для преодоления данной проблемы использовали лапонит, который представляет собой силикатную глину. Наночастицы лапонита обладают отрицательным и положительным зарядом на разных гранях, образуя сети с гидрогелем Si-НРМС

с контролируемыми свойствами гелеобразования. Наноккомпозит показал улучшенные механические свойства при сохранении биосовместимости и хорошей диффузии кислорода. Гидрогели Si-HPMC как с лапонитом, так и без него смешивали с хондроцитами человека и вводили подкожно в холку самкам мышей Nude. Дальнейший гистологический анализ выявил наличие зрелых хондроцитов, которые были расположены в лакунах, окружённых базофильным матриксом, при этом клетки в скоплениях секретировали компоненты ВКМ [65, 66].

В другом исследовании при оценке эффективности восстановления хряща в эксперименте на собаках выявлено, что гидрогель на основе силилированной целлюлозы и хитозана с добавлением стромальных клеток жировой ткани почти полностью заполнил дефект гиалиновой хрящевой тканью. При этом бесклеточный гидрогель показал сопоставимый регенеративный эффект. В группе контроля дефекты были лишь частично заполнены фиброзной тканью [67]. В сочетании с альгинатом натрия наноцеллюлоза использовалась для создания гидрогелей и показала хорошие механические свойства, интеграцию и регенерацию хряща у мышей [68–70].

Гидрогель ПЭГ, содержащий фактор роста TGF- β 3 и хондроциты, также является многообещающей матрицей для регенерации гиалинового хряща. При подкожной имплантации мышам Nude данного гидрогеля показано, что образовавшийся ВКМ содержит больше агрекана, декорина, бигликана, коллагена II типа, чем после инъекции гидрогеля без добавления TGF- β 3 [71]. Описанный эффект закономерен, поскольку TGF- β 3 — один из наиболее важных белков, влияющих на хондрогенез. Взаимодействуя непосредственно с рецепторами на поверхности клеточной мембраны, это белок запускает каскад молекулярных взаимодействий с участием транскрипционного фактора Sox9 через каскад Smad, стимулируя экспрессию генов белков ВКМ [32, 72, 73].

В другом исследовании хондроциты после 3D-культивирования в присутствии TGF- β 3 формировали хрящевую ткань *in vitro* и *in vivo* [74]. Применение 3D-структур может оказаться более эффективным, поскольку синтез и секреция компонентов ВКМ в данном случае начинается ещё до имплантации в организм, что закономерно должно ускорить процесс интеграции продукта в хрящевую ткань.

Подложки с лизатом тромбоцитов или фибрином

Гидрогели можно «нагружать» не только отдельными цитокинами, такими как TGF- β 3, но и очень сложными биологически активными смесями. Так, подложки с лизатом тромбоцитов (ЛТ) совсем недавно были исследованы для регенерации хрящей и костей, а также для заживления ран. ЛТ содержит, помимо основных белков, таких как альбумин и фибриноген, коктейль

из факторов роста и других БАВ. В исследованиях было показано, что ЛТ потенцирует пролиферацию клеток, их миграцию, а также хондрогенную дифференцировку. Концентраты тромбоцитов уже длительное время используются в медицине из-за их доступности, экономичности и аутологичной природы [75].

Показано, что инъекционный гидрогель из ГК и трамина, содержащий ЛТ, является простым в применении подходом и может использоваться в качестве подложки для клеток [8]. Кроме того, за счёт способности к гелеобразованию и наличия факторов роста в составе, PRP может применяться в качестве компонента для подложек из различных материалов [76, 77].

Многие исследования продемонстрировали потенциальную эффективность и отличную биосовместимость PRP для восстановления дефектов хряща [78]. ЛТ представляет собой естественный пул факторов роста, состоящий из TGF- β 1, TGF- β 3, IGF-1 и VEGF, и может быть получен из PRP. Благодаря удалению фрагментов тромбоцитов градиентным центрифугированием иммуногенность ЛТ ниже, чем у PRP [79]. Показано, что гидрогель с ЛТ и гепарином способствовал восстановлению хряща у крыс с моделированным артритом коленного сустава [32, 80].

Результаты исследований *in vivo* обнадеживают, указывая на то, что имплантаты на основе фибрина являются достойным вариантом лечения повреждений хряща с помощью тканевой инженерии [27, 81, 82]. Так, фибриновый клей и аутологичные тромбоциты с добавлением МСК костного мозга эффективно регенерировали хрящ в эксперименте на лошадях, однако и бесклеточный продукт также показал свою эффективность [68, 83].

ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Существует множество нерешённых вопросов относительно оптимальной техники восстановления хряща на основе клеток, клинические исследования продолжают во многих странах [68, 84]. Не установлено явного превосходства одного метода над другим, опубликованные исследования различаются по своему качеству, а большинство статей являются описанием серий случаев [18] или экспериментов на животных [27, 68]. При этом методы оценки эффективности используемых методов лечения также разнятся между собой. Например, не регламентирован важный параметр длительности культивирования клеток в монослое или в 3D-культуре [18, 85]. На сегодняшний день биомедицинским сообществом отмечается, что данную проблему можно решить комплексным подходом с использованием клеточных технологий, новых материалов, методов генетической инженерии, ростовых факторов и гормонов, лекарственных препаратов [86–88].

Инъекционные гидрогели, которые являются основным направлением развития биоинженерии хрящевой

ткани не только благодаря бионическим свойствам, сходным с ВКМ хряща из-за высокого содержания воды, но также из-за минимально инвазивного способа введения и высокой пластичности, находятся в приоритете. Для улучшения биомеханических свойств инъекционных гидрогелей в них добавляют различные полимерные смеси, а для изменения механических свойств используют многие нанокompозитные материалы [32]. Интеграция клеток и цитокинов или других БАВ в гидрогели может улучшить интеграцию гидрогелей в ткань и способствовать регенерации хряща [71, 77].

В большинстве работ по получению скаффолдов с клетками для регенерации хряща исследователи использовали культуры аутологичных хондроцитов. В ряде случаев из-за ограниченного количества клеточного материала требуется длительное культивирование, при котором имеется риск потери клетками хондрогенных свойств и их дифференцировки в фибробласты, что может привести к фиброзу после трансплантации [89–91]. Аутологичные хондроциты в основном получают из хряща ненагруженной области сустава, что может привести к излишнему повреждению донорского участка [32, 92].

Несмотря на то, что клеточные продукты на основе аутологичных хондроцитов для восстановления хрящевой ткани уже присутствуют на медицинском и биотехнологическом рынках, пока они больше направлены на коррекцию незначительных повреждений суставных хрящей и не покрывают всю потребность сообщества пациентов с серьёзными патологиями суставов или пороками развития с учётом степени тяжести воспалительно-дегенеративного процесса. В частности, при появлении остеофитов и (в тяжёлых случаях) — при деформации сустава применение клеточных технологий может быть ограничено. Более того, часто в силу ряда причин невозможно получить в достаточном количестве аутологичные хондроциты для создания полноценного хрящевого имплантата (например, в случае длительной глюкокортикоидной терапии). В последнее время также появляются данные о нецелесообразности использования клеточного материала, полученного от пациентов с рядом патологий хрящевой ткани, при изготовлении клеточных продуктов для терапии в связи со сниженной функциональностью хондроцитов. Кроме того, при некоторых наследственных патологиях совсем невозможно получить функциональный клеточный материал.

В связи с этим индуцированные плюрипотентные клетки (ИПСК) являются многообещающим и ёмким источником для получения различных дифференцированных производных, в том числе хондроцитов. Однако данные об их безопасности и способности формировать полноценную функционально-активную хрящевую ткань достаточно ограничены, а касаясь иммуногенности — противоречивы. Кроме того, получение аутологичных ИПСК — это длительный и дорогостоящий процесс,

затрудняющий внедрение продуктов на их основе в медицинскую практику, а несовершенство протоколов дифференцировки пока не позволяет получать культуры хондроцитов в «чистом» виде [93]. Однако есть патологии, при которых совсем нет смысла использовать аутологичный материал. Например, при наследственных формах хондродисплазии, которые часто проявляются в раннем детстве как лёгкие или тяжёлые нарушения скелета из-за мутаций в генах, ответственных за формирование компонентов хряща [93]. В этом случае наиболее вероятным способом становится или генная терапия, или использование аллогенных дифференцированных производных стволовых клеток, либо комбинация двух технологий. Неоднозначность в этом вопросе вносят и появляющиеся публикации о пониженном хондрогенном потенциале дифференцированных производных ИПСК, взятых от пациентов с остеоартритом, по сравнению с ИПСК здоровых доноров, что несёт в себе риски получения клеточного продукта, обладающего потенциально меньшей терапевтической эффективностью.

Перспективным подходом представляется создание и применение для этих целей аллогенных ИПСК с пониженной иммуногенностью, универсальных для всех реципиентов. Такие линии после валидации их плюрипотентного статуса можно использовать для дифференцировки в различные типы клеточных производных, так называемых продуктов *off-the-shelf*, в том числе на основе хондроцитов, с целью последующего создания клеточных и тканеинженерных продуктов для трансплантации. Такие линии ИПСК могут решить основную проблему дефицита донорского материала, когда его невозможно получить от пациента по показаниям или при наличии серьёзной патологии. Вместе с тем нельзя сбрасывать со счёта и высокий риск туморогенеза или повышенной пролиферации гипоиммуногенных ИПСК и их производных, что может нарушать нормальное функционирование ткани при трансплантации. Подходы к снижению таких рисков только начинают разрабатываться в последние годы, и до применения в клинике таких «универсальных» линий необходимы многочисленные исследования их биобезопасности и эффективности как *in vitro*, так и на животных [94]. В связи с этим проведение сравнительных исследований полноценной функциональности и структуры полученных хрящеподобных конструкций из различных клеточных источников становится актуальным и необходимым шагом для дальнейших работ по разработке тканеинженерных конструкций и стратегий их применения для нужд регенеративной медицины. В конечном итоге мы получим ответ на вопрос — какой биологический источник клеток позволяет получить безопасную и наиболее приближённую по структуре и функциональной активности к нативной хрящевой ткани конструкцию. Более того, омиксные подходы позволят определить ключевые факторы, которые отвечают за дифференцировку или поддержание дифференцированного

состояния, что будет способствовать оптимизации существующих протоколов по получению клеточных продуктов на основе культур хондроцитов разного генеза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящий момент наметилась тенденция оптимизации технологий получения клеточных или тканеинженерных конструкций в сторону комбинации клеточных источников, таких как хондроциты или МСК, с матрицами, содержащими молекулы ВКМ и факторы роста для стимуляции регенерации ткани, а также медицинских подходов к их применению. Пока такие методы лечения не стали общедоступными, необходимо оценить использование существующих технологий, чтобы определить наиболее эффективные и сравнительно недорогие в производстве и применении. Многие данные свидетельствуют о том, что имплантация хондроцитов на подложке предпочтительнее, чем нативных клеток. Однако недостаток сравнительных исследований в данной области располагает к дальнейшим поискам. Кроме того, необходимы эксперименты для подтверждения преимуществ конкретных клеточных продуктов как при различных степенях поражения хрящевой ткани, так и при разных патологиях. Дальнейшие клинические исследования, в том числе рандомизированные контролируемые испытания, определяют истинную клиническую эффективность клеток с гидрогелями при восстановлении хряща.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Данная публикация выполнена в рамках государственного задания № 122032300191-2 «Органоид-22».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lee J.S., Shim D.W., Kang K.Y., et al. Method categorization of stem cell therapy for degenerative osteoarthritis of the knee: a review // *Int J Mol Sci.* 2021. Vol. 22, N 24. P. 13323. doi: 10.3390/ijms222413323
2. Moran C.J., Pascual-Garrido C., Chubinskaya S., et al. Restoration of articular cartilage // *J Bone Joint Surg Am.* 2014. Vol. 96, N 4. P. 336–344. doi: 10.2106/JBJS.L.01329
3. Minas T. A primer in cartilage repair // *J Bone Joint Surg Br.* 2012. Vol. 94, N 11 Suppl. A. P. 141–146. doi: 10.1302/0301-620X.94B11.30679
4. Safran M.R., Seiber K. The evidence for surgical repair of articular cartilage in the knee // *J Am Acad Orthop Surg.* 2010. Vol. 18, N 5. P. 259–266. doi: 10.5435/00124635-201005000-00002
5. Huang G., Hua S.H.A., Yang T., et al. Platelet-rich plasma shows beneficial effects for patients with knee osteoarthritis by suppressing inflammatory factors // *Exp Ther Med.* 2018. Vol. 15, N 3. P. 3096–3102. doi: 10.3892/etm.2018.5794
6. Tsikopoulos K., Tsikopoulos I., Simeonidis E., et al. The clinical impact of platelet-rich plasma on tendinopathy compared to placebo

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Наибольший вклад распределён следующим образом: П.А. Голубинская — обзор литературы, сбор и анализ литературных источников, редактирование статьи; А.С. Пикина — подготовка и написание текста статьи; Е.С. Ручко — поиск литературы; Т.В. Владимирова — поиск литературы; А.В. Еремеев — редактирование текста статьи; А.Н. Богомазова — финальное редактирование и правка. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

ADDITIONAL INFORMATION

Source of financing. This publication was carried out within the framework of the state task No. 122032300191-2 “Organoid-22”.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contribution. The greatest contribution is distributed as follows: P.A. Golubinskaya — literature review, collection and analysis of literary sources, editing of the article; A.S. Pikina — preparation and writing of the text of the article; E.S. Ruchko — literature search; T.V. Vladimirova — literature search; A.V. Eremeev — editing, A.N. Bogomazova — final editing and editing. All authors confirm that their authorship meets the international ICMJE criteria (all authors have made a significant contribution to the development of the concept, research and preparation of the article, read and approved the final version before publication).

or dry needling injections: a meta-analysis // *Phys Ther Sport.* 2016. Vol. 17. P. 87–94. doi: 10.1016/j.ptsp.2015.06.003

7. Zhou Z., Zheng J., Meng X., Wang F. Effects of electrical stimulation on articular cartilage regeneration with a focus on piezoelectric biomaterials for articular cartilage tissue repair and engineering // *Int J Mol Sci.* 2023. Vol. 24, N 3. P. 1836. doi: 10.3390/ijms24031836

8. Jooybar E., Abdekhodaie M.J., Alvi M., et al. An injectable platelet lysate-hyaluronic acid hydrogel supports cellular activities and induces chondrogenesis of encapsulated mesenchymal stem cells // *Acta Biomater.* 2019. Vol. 83. P. 233–244. doi: 10.1016/j.actbio.2018.10.031

9. Brittberg M., Lindahl A., Nilsson A., et al. Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation // *N Engl J Med.* 1994. Vol. 331, N 14. P. 889–895. doi: 10.1056/NEJM199410063311401

10. Brittberg M., Peterson L., Sjögren-Jansson E., et al. Articular cartilage engineering with autologous chondrocyte transplantation. A review of recent developments // *J Bone*

- Joint Surg Am. 2003. Vol. 85-A, Suppl. 3. P. 109–115. doi: 10.2106/00004623-200300003-00017
11. Gonzalez-Fernandez P., Rodriguez-Nogales C., Jordan O., Allémann E. Combination of mesenchymal stem cells and bioactive molecules in hydrogels for osteoarthritis treatment // *Eur J Pharm Biopharm.* 2022. Vol. 172. P. 41–52. doi: 10.1016/j.ejpb.2022.01.003
12. Brittberg M. Cell carriers as the next generation of cell therapy for cartilage repair: a review of the matrix-induced autologous chondrocyte implantation procedure // *Am J Sports Med.* 2010. Vol. 38, N 6. P. 1259–1271. doi: 10.1177/0363546509346395
13. Mahapatra C., Jin G.Z., Kim H.W. Alginate-hyaluronic acid-collagen composite hydrogel favorable for the culture of chondrocytes and their phenotype maintenance // *Tissue Eng Regen Med.* 2016. Vol. 13, N 5. P. 538–546. doi: 10.1007/s13770-016-0059-1
14. Gigante A., Bevilacqua C., Ricevuto A., et al. Membrane-seeded autologous chondrocytes: cell viability and characterization at surgery // *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2007. Vol. 15, N 1. P. 88–92. doi: 10.1007/s00167-006-0115-9
15. Russlies M., Behrens P., Wunsch L., et al. A cell-seeded biocomposite for cartilage repair // *Ann Anat.* 2002. Vol. 184, N 4. P. 317–323. doi: 10.1016/S0940-9602(02)80045-0
16. Zheng M.H., Willers C., Kirilak L., et al. Matrix-induced autologous chondrocyte implantation (MACI): biological and histological assessment // *Tissue Eng.* 2007. Vol. 13, N 4. P. 737–746. doi: 10.1089/ten.2006.0246
17. Thermann H., Driessen A., Becher C. Die autologe Knorpelzelltransplantation zur Behandlung von Knorpelläsionen am Talus // *Orthopade.* 2008. Vol. 37, N 3. P. 232–239. doi: 10.1007/s00132-008-1215-7
18. Riedl M., Vadalà G., Papalia R., et al. Three-dimensional, scaffold-free, autologous chondrocyte transplantation: a systematic review // *Orthop J Sports Med.* 2020. Vol. 8, N 9. P. 2325967120951152. doi: 10.1177/2325967120951152
19. Meyer U., Wiesmann H.P., Libera J., Denaro V. Cartilage defect regeneration by ex vivo engineered autologous microtissue — preliminary results // *In Vivo.* 2012. Vol. 26, N 2. P. 251–257.
20. Jiang S., Guo W., Tian G., et al. Clinical application status of articular cartilage regeneration techniques: tissue-engineered cartilage brings new hope // *Stem Cells Int.* 2020. Vol. 2020. P. 5690252. doi: 10.1155/2020/5690252
21. Tan H., Marra K.G. Injectable, biodegradable hydrogels for tissue engineering applications // *Materials (Basel).* 2010. Vol. 3, N 3. C. 1746–1767. doi: 10.3390/ma3031746
22. Schulze-Tanzil G. Activation and dedifferentiation of chondrocytes: implications in cartilage injury and repair // *Ann Anat.* 2009. Vol. 191, N 4. P. 325–338. doi: 10.1016/j.aanat.2009.05.003
23. Barisón M.J., Nogoceke R., Josino R., et al. Functionalized hydrogels for cartilage repair: the value of secretome-instructive signaling // *Int J Mol Sci.* 2022. Vol. 23, N 11. P. 6010. doi: 10.3390/ijms23116010
24. Heirani-Tabasi A., Hosseinzadeh S., Rabbani S., et al. Cartilage tissue engineering by co-transplantation of chondrocyte extracellular vesicles and mesenchymal stem cells, entrapped in chitosan-hyaluronic acid hydrogel // *Biomed Mater.* 2021. Vol. 16, N 5. doi: 10.1088/1748-605X/ac0cbf
25. Wei W., Ma Y., Yao X., et al. Advanced hydrogels for the repair of cartilage defects and regeneration // *Bioact Mater.* 2020. Vol. 6, N 4. P. 998–1011. doi: 10.1016/j.bioactmat.2020.09.030
26. Huang J., Liu F., Su H., et al. Advanced nanocomposite hydrogels for cartilage tissue engineering // *Gels.* 2022. Vol. 8, N 2. P. 138. doi: 10.3390/gels8020138
27. Wu J., Chen Q., Deng C., et al. Exquisite design of injectable hydrogels in cartilage repair // *Theranostics.* 2020. Vol. 10, N 21. P. 9843–9864. doi: 10.7150/thno.46450
28. Schaeffer C., Pfaff B.N., Cornell N.J., et al. Injectable microannealed porous scaffold for articular cartilage regeneration // *Ann Plast Surg.* 2020. Vol. 84, N 6S Suppl. 5. P. S446–S450. doi: 10.1097/SAP.0000000000002271
29. Yang J., Zhang Y.S., Yue K., Khademhosseini A. Cell-laden hydrogels for osteochondral and cartilage tissue engineering // *Acta Biomater.* 2017. Vol. 57. P. 1–25. doi: 10.1016/j.actbio.2017.01.036
30. Fu N., Dong T., Meng A., et al. Research progress of the types and preparation techniques of scaffold materials in cartilage tissue engineering // *Curr Stem Cell Res Ther.* 2018. Vol. 13, N 7. P. 583–590. doi: 10.2174/1574888X12666170718152611
31. Pascual-Garrido C., Rodriguez-Fontan F., Aisenbrey E.A., et al. Current and novel injectable hydrogels to treat focal chondral lesions: properties and applicability // *J Orthop Res.* 2018. Vol. 36, N 1. P. 64–75. doi: 10.1002/jor.23760
32. Zhu S., Li Y., He Z., et al. Advanced injectable hydrogels for cartilage tissue engineering // *Front Bioeng Biotechnol.* 2022. Vol. 10. P. 954501. doi: 10.3389/fbioe.2022.954501
33. Wang G., Cao X., Dong H., et al. A hyaluronic acid based injectable hydrogel formed via photo-crosslinking reaction and thermal-induced diels-alder reaction for cartilage tissue engineering // *Polymers (Basel).* 2018. Vol. 10, N 9. P. 949. doi: 10.3390/polym10090949
34. Uzielienė I., Bironaitė D., Pachaleva J., et al. Chondroitin sulfate-tyramine-based hydrogels for cartilage tissue repair // *Int J Mol Sci.* 2023. Vol. 24, N 4. P. 3451. doi: 10.3390/ijms24043451
35. Salehi S., Naghib S.M., Garshasbi H.R., et al. Smart stimuli-responsive injectable gels and hydrogels for drug delivery and tissue engineering applications: a review // *Front Bioeng Biotechnol.* 2023. Vol. 11. P. 1104126. doi: 10.3389/fbioe.2023.1104126
36. Jeznach O., Kołbuk D., Sajkiewicz P. Injectable hydrogels and nanocomposite hydrogels for cartilage regeneration // *J Biomed Mater Res A.* 2018. Vol. 106, N 10. P. 2762–2776. doi: 10.1002/jbm.a.36449
37. Naranjo-Alcazar R., Bendix S., Groth T., Gallego Ferrer G. Research progress in enzymatically cross-linked hydrogels as injectable systems for bioprinting and tissue engineering // *Gels.* 2023. Vol. 9, N 3. P. 230. doi: 10.3390/gels9030230
38. Unagolla J.M., Jayasuriya A.C. Hydrogel-based 3D bioprinting: a comprehensive review on cell-laden hydrogels, bioink formulations, and future perspectives // *Appl Mater Today.* 2020. Vol. 18. P. 100479. doi: 10.1016/j.apmt.2019.100479
39. Roehm K.D., Madhally S.V. Bioprinted chitosan-gelatin thermosensitive hydrogels using an inexpensive 3D printer // *Biofabrication.* 2017. Vol. 10, N 1. P. 015002. doi: 10.1088/1758-5090/aa96dd
40. Liu Y., Geever L.M., Kennedy J.E., et al. Thermal behavior and mechanical properties of physically crosslinked PVA/Gelatin hydrogels // *J Mech Behav Biomed Mater.* 2010. Vol. 3, N 2. P. 203–209. doi: 10.1016/j.jmbbm.2009.07.001
41. Adhikari J., Roy A., Das A., et al. Effects of processing parameters of 3D bioprinting on the cellular activity of bioinks // *Macromol Biosci.* 2021. Vol. 21, N 1. P. e2000179. doi: 10.1002/mabi.202000179

- 42.** Das S., Basu B. An overview of hydrogel-based bioinks for 3D bioprinting of soft tissues // *J Indian Inst Sci.* 2019. Vol. 99, N 3. P. 405–428. doi: 10.1007/s41745-019-00129-5
- 43.** Maiullari F., Costantini M., Milan M., et al. A multi-cellular 3D bioprinting approach for vascularized heart tissue engineering based on HUVECs and iPSC-derived cardiomyocytes // *Sci Rep.* 2018. Vol. 8, N 1. P. 13532. doi: 10.1038/s41598-018-31848-x
- 44.** Mouser V.H.M., Levato R., Mensinga A., et al. Bio-ink development for three-dimensional bioprinting of hetero-cellular cartilage constructs // *Connect Tissue Res.* 2020. Vol. 61, N 2. P. 137–151. doi: 10.1080/03008207.2018.1553960
- 45.** Poldervaart M.T., Goversen B., De Ruijter M., et al. 3D bioprinting of methacrylated hyaluronic acid (MeHA) hydrogel with intrinsic osteogenicity // *PLoS One.* 2017. Vol. 12, N 6. P. e0177628. doi: 10.1371/journal.pone.0177628
- 46.** McHale M.K., Setton L.A., Chilkoti A. Synthesis and in vitro evaluation of enzymatically cross-linked elastin-like polypeptide gels for cartilaginous tissue repair // *Tissue Eng.* 2005. Vol. 11, N 11–12. P. 1768–1779. doi: 10.1089/ten.2005.11.1768
- 47.** Xu Y., Xu Y., Bi B., et al. A moldable thermosensitive hydroxypropyl chitin hydrogel for 3D cartilage regeneration in vitro and in vivo // *Acta Biomater.* 2020. Vol. 108. P. 87–96. doi: 10.1016/j.actbio.2020.03.039
- 48.** Ying H., Shen C., Pan R., et al. Strategy insight: mechanical properties of biomaterials' influence on hydrogel-mesenchymal stromal cell combination for osteoarthritis therapy // *Front Pharmacol.* 2023. Vol. 14. P. 1152612. doi: 10.3389/fphar.2023.1152612
- 49.** Fu Y., Zoetebier B., Both S., et al. Engineering of optimized hydrogel formulations for cartilage repair // *Polymers (Basel).* 2021. Vol. 13, N 9. P. 1526. doi: 10.3390/polym13091526
- 50.** Jin Y., Koh R.H., Kim S.H., et al. Injectable anti-inflammatory hyaluronic acid hydrogel for osteoarthritic cartilage repair // *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2020. Vol. 115. P. 111096. doi: 10.1016/j.msec.2020.111096
- 51.** Tsanaktsidou E., Kammona O., Kiparissides C. Recent developments in hyaluronic acid-based hydrogels for cartilage tissue engineering applications // *Polymers (Basel).* 2022. Vol. 14, N 4. P. 839. doi: 10.3390/polym14040839
- 52.** Chen F., Yu S., Liu B., et al. An injectable enzymatically crosslinked carboxymethylated pullulan/chondroitin sulfate hydrogel for cartilage tissue engineering // *Sci Rep.* 2016. Vol. 6. P. 20014. doi: 10.1038/srep20014
- 53.** Li J., Huang Y., Song J., et al. Cartilage regeneration using arthroscopic flushing fluid-derived mesenchymal stem cells encapsulated in a one-step rapid cross-linked hydrogel // *Acta Biomater.* 2018. Vol. 79. P. 202–215. doi: 10.1016/j.actbio.2018.08.029
- 54.** Lin H., Beck A.M., Shimomura K., et al. Optimization of photocrosslinked gelatin/hyaluronic acid hybrid scaffold for the repair of cartilage defect // *J Tissue Eng Regen Med.* 2019. Vol. 13, N 8. P. 1418–1429. doi: 10.1002/term.2883
- 55.** Yu F., Cao X., Li Y., et al. An injectable hyaluronic acid/PEG hydrogel for cartilage tissue engineering formed by integrating enzymatic crosslinking and Diels–Alder “click chemistry” // *Polym Chem.* 2014. Vol. 5, N 3. P. 1082–1090. doi: 10.1039/c3py00869j
- 56.** Park H., Choi B., Hu J., Lee M. Injectable chitosan hyaluronic acid hydrogels for cartilage tissue engineering // *Acta Biomater.* 2013. Vol. 9, N 1. P. 4779–4786. doi: 10.1016/j.actbio.2012.08.033
- 57.** Płończak M., Wasyleczko M., Jakutowicz T., et al. Intraarticular implantation of autologous chondrocytes placed on collagen or polyethersulfone scaffolds: an experimental study in rabbits // *Polymers (Basel).* 2023. Vol. 15, N 10. P. 2360. doi: 10.3390/polym15102360
- 58.** Hu M., Yang J., Xu J. Structural and biological investigation of chitosan/hyaluronic acid with silanized-hydroxypropyl methylcellulose as an injectable reinforced interpenetrating network hydrogel for cartilage tissue engineering // *Drug Deliv.* 2021. Vol. 28, N 1. P. 607–619. doi: 10.1080/10717544.2021.1895906
- 59.** Chiang M.Y., Cheng I.Y., Chou S.H., et al. A smart injectable composite hydrogel with magnetic navigation and controlled glutathione release for promoting in situ chondrocyte array and self-healing in damaged cartilage tissue // *J Mater Chem B.* 2021. Vol. 9, N 45. P. 9370–9382. doi: 10.1039/d1tb02030g
- 60.** Fattahpour S., Shamanian M., Tavakoli N., et al. An injectable carboxymethyl chitosan-methylcellulose-pluronic hydrogel for the encapsulation of meloxicam loaded nanoparticles // *Int J Biol Macromol.* 2020. Vol. 151. P. 220–229. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.02.002
- 61.** Qi C., Liu J., Jin Y., et al. Photo-crosslinkable, injectable sericin hydrogel as 3D biomimetic extracellular matrix for minimally invasive repairing cartilage // *Biomaterials.* 2018. Vol. 163. P. 89–104. Corrected and republished from: *Biomaterials.* 2021. Vol. 278. P. 121134. doi: 10.1016/j.biomaterials.2018.02.016
- 62.** Onofrillo C., Duchi S., Francis S., et al. FLASH: Fluorescently Labeled Sensitive Hydrogel to monitor bioscaffolds degradation during neocartilage generation // *Biomaterials.* 2021. Vol. 264. P. 120383. doi: 10.1016/j.biomaterials.2020.120383
- 63.** Oprea M., Voicu S.I. Recent advances in composites based on cellulose derivatives for biomedical applications // *Carbohydr Polym.* 2020. Vol. 247. P. 116683. doi: 10.1016/j.carbpol.2020.116683
- 64.** Yang Y., Lu Y.T., Zeng K., et al. Recent progress on cellulose-based ionic compounds for biomaterials // *Adv Mater.* 2021. Vol. 33, N 28. P. e2000717. doi: 10.1002/adma.202000717
- 65.** Mellati A., Hasanzadeh E., Gholipourmalekabadi M., Enderami S.E. Injectable nanocomposite hydrogels as an emerging platform for biomedical applications: a review // *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2021. Vol. 131. P. 112489. doi: 10.1016/j.msec.2021.112489
- 66.** Boyer C., Figueiredo L., Pace R., et al. Laponite nanoparticle-associated silated hydroxypropylmethyl cellulose as an injectable reinforced interpenetrating network hydrogel for cartilage tissue engineering // *Acta Biomater.* 2018. Vol. 65. P. 112–122. doi: 10.1016/j.actbio.2017.11.027
- 67.** Boyer C., Réthoré G., Weiss P., et al. A self-setting hydrogel of silylated chitosan and cellulose for the repair of osteochondral defects: from in vitro characterization to preclinical evaluation in dogs // *Front Bioeng Biotechnol.* 2020. Vol. 8. P. 23. doi: 10.3389/fbioe.2020.00023
- 68.** Zoetebier B., Schmitz T.C., Ito K., et al. Injectable hydrogels for articular cartilage and nucleus pulposus repair: status quo and prospects // *Tissue Eng Part A.* 2022. Vol. 28, N 11–12. P. 478–499. doi: 10.1089/ten.TEA.2021.0226
- 69.** Al-Sabah A., Burnell S.E.A., Simoes I.N., et al. Structural and mechanical characterization of crosslinked and sterilised nanocellulose-based hydrogels for cartilage tissue engineering // *Carbohydr Polym.* 2019. Vol. 212. P. 242–251. doi: 10.1016/j.carbpol.2019.02.057

- 70.** Guo X., Xi L., Yu M., et al. Regeneration of articular cartilage defects: therapeutic strategies and perspectives // *J Tissue Eng*. 2023. Vol. 14. P. 20417314231164765. doi: 10.1177/2041731423116476
- 71.** Schneider M.C., Chu S., Randolph M.A., Bryant S.J. An in vitro and in vivo comparison of cartilage growth in chondrocyte-laden matrix metalloproteinase-sensitive poly(ethylene glycol) hydrogels with localized transforming growth factor β 3 // *Acta Biomater*. 2019. Vol. 93. P. 97–110. doi: 10.1016/j.actbio.2019.03.046
- 72.** Bozhokin M.S., Sopova Y.V., Kachkin D.V., et al. Mechanisms of TGF β 3 action as a therapeutic agent for promoting the synthesis of extracellular matrix proteins in hyaline cartilage // *Biochemistry (Mosc)*. 2020. Vol. 85, N 4. P. 436–447. doi: 10.1134/S0006297920040045
- 73.** Chen L., Wei L., Su X., et al. Preparation and characterization of biomimetic functional scaffold with gradient structure for osteochondral defect repair // *Bioengineering (Basel)*. 2023. Vol. 10, N 2. P. 213. doi: 10.3390/bioengineering10020213
- 74.** Bianchi V.J., Lee A., Anderson J., et al. Redifferentiated chondrocytes in fibrin gel for the repair of articular cartilage lesions // *Am J Sports Med*. 2019. Vol. 47, N 10. P. 2348–2359. doi: 10.1177/0363546519857571
- 75.** Losi P., Briganti E., Sanguinetti E., Briganti E. Healing effect of a fibrin-based scaffold loaded with platelet lysate in full-thickness skin wounds // *J Bioact Compat Polym*. 2015. Vol. 30, N 2. P. 222–237. doi: 10.1177/0883911514568436
- 76.** Bolandi B., Imani R., Bonakdar S., Fakhrzadeh H. Chondrogenic stimulation in mesenchymal stem cells using scaffold-based sustained release of platelet-rich plasma // *J Appl Polym Sci*. 2021. Vol. 138, N 12. P. 50075. doi: 10.1002/app.50075
- 77.** Wu S., Guo W., Li R., et al. Progress of platelet derivatives for cartilage tissue engineering // *Front Bioeng Biotechnol*. 2022. Vol. 10. P. 907356. doi: 10.3389/fbioe.2022.907356
- 78.** Yan W., Xu X., Xu Q., et al. Platelet-rich plasma combined with injectable hyaluronic acid hydrogel for porcine cartilage regeneration: a 6-month follow-up // *Regen Biomater*. 2020. Vol. 7, N 1. P. 77–90. doi: 10.1093/rb/rbz039
- 79.** Li Y., Wang X., Han Y., et al. Click chemistry-based biopolymeric hydrogels for regenerative medicine // *Biomed Mater*. 2021. Vol. 16, N 2. P. 022003. doi: 10.1088/1748-605X/abc0b3
- 80.** Tang Q., Lim T., Shen L.Y., et al. Well-dispersed platelet lysate entrapped nanoparticles incorporate with injectable PDLLA-PEG-PDLLA triblock for preferable cartilage engineering application // *Biomaterials*. 2021. Vol. 268. P. 120605. doi: 10.1016/j.biomaterials.2020.120605
- 81.** Rojas-Murillo J.A., Simental-Mendía M.A., Moncada-Saucedo N.K., et al. Physical, mechanical, and biological properties of fibrin scaffolds for cartilage repair // *Int J Mol Sci*. 2022. Vol. 23, N 17. P. 9879. doi: 10.3390/ijms23179879
- 82.** Berninger M.T., Wexel G., Rummeny E.J., et al. Treatment of osteochondral defects in the rabbit's knee joint by implantation of allogeneic mesenchymal stem cells in fibrin clots // *J Vis Exp*. 2013. N 75. P. 4423. doi: 10.3791/4423
- 83.** Dahlgren L.A. Cartilage resurfacing: unresolved enigma. Commentary on an article by Goodrich L.R., et al.: Addition of mesenchymal stem cells to autologous platelet-enhanced fibrin scaffolds in chondral defects. does it enhance repair? // *J Bone Joint Surg Am*. 2016. Vol. 98, N 1. P. e5. doi: 10.2106/JBJS.O.00925
- 84.** Binder H., Hoffman L., Zak L., et al. Clinical evaluation after matrix-associated autologous chondrocyte transplantation: a comparison of four different graft types // *Bone Joint Res*. 2021. Vol. 10, N 7. P. 370–379. doi: 10.1302/2046-3758.107.BJR-2020-0370.R1
- 85.** Eschen C., Kaps C., Widuchowski W., et al. Clinical outcome is significantly better with spheroid-based autologous chondrocyte implantation manufactured with more stringent cell culture criteria // *Osteoarthr Cartil Open*. 2020. Vol. 2, N 1. P. 100033. doi: 10.1016/j.oart.2020.100033
- 86.** Madeira C., Santhagunam A., Salgueiro J.B., Cabral J.M. Advanced cell therapies for articular cartilage regeneration // *Trends Biotechnol*. 2015. Vol. 33, N 1. P. 35–42. doi: 10.1016/j.tibtech.2014.11.003
- 87.** Inui A., Iwakura T., Reddi A.H. Human stem cells and articular cartilage regeneration // *Cells*. 2012. Vol. 1, N 4. P. 994–1009. doi: 10.3390/cells1040994
- 88.** Еремеев А.В., Зубкова О.А., Ручко Е.С., и др. Ключевые характеристики аутологичного биомедицинского продукта для коррекции дефекта хрящевой ткани // *Медицина экстремальных ситуаций*. 2020. Т. 22, № 4. С. 59–66. EDN: OQVWAN doi: 10.47183/mes.2020.014
- 89.** Zhou S., Bei Z., Wei J., et al. Mussel-inspired injectable chitosan hydrogel modified with catechol for cell adhesion and cartilage defect repair // *J Mater Chem B*. 2022. Vol. 10, N 7. P. 1019–1030. doi: 10.1039/d1tb02241e
- 90.** Lietman S.A. Induced pluripotent stem cells in cartilage repair // *World J Orthop*. 2016. Vol. 7, N 3. P. 149–155. doi: 10.5312/wjo.v7.i3.149
- 91.** Kimura T., Yamashita A., Ozono K., Tsumaki N. Limited immunogenicity of human induced pluripotent stem cell-derived cartilages // *Tissue Eng Part A*. 2016. Vol. 22, N 23–24. P. 1367–1375. doi: 10.1089/ten.TEA.2016.0189
- 92.** Chen W., Li C., Peng M., et al. Autologous nasal chondrocytes delivered by injectable hydrogel for in vivo articular cartilage regeneration // *Cell Tissue Bank*. 2018. Vol. 19, N 1. P. 35–46. doi: 10.1007/s10561-017-9649-y
- 93.** Wu C.L., Dicks A., Steward N., et al. Single cell transcriptomic analysis of human pluripotent stem cell chondrogenesis // *Nat Commun*. 2021. Vol. 12, N 1. P. 362. doi: 10.1038/s41467-020-20598-y
- 94.** Богомякова М.Е., Еремеев А.В., Лагарькова М.А. «Свой среди чужих»: можно ли создать гипоиммуногенные линии плюрипотентных стволовых клеток? // *Молекулярная биология*. 2019. Т. 53, № 5. С. 725–740. EDN: ODQOJP doi: 10.1134/S0026898419050045

REFERENCES

- 1.** Lee JS, Shim DW, Kang KY, et al. Method categorization of stem cell therapy for degenerative osteoarthritis of the knee: a review. *Int J Mol Sci*. 2021;22(24):13323. doi: 10.3390/ijms222413323
- 2.** Moran CJ, Pascual-Garrido C, Chubinskaya S, et al. Restoration of articular cartilage. *J Bone Joint Surg Am*. 2014;96(4):336–344. doi: 10.2106/JBJS.L.01329
- 3.** Minas T. A primer in cartilage repair. *J Bone Joint Surg Br*. 2012;94(11 Suppl. A):141–146. doi: 10.1302/0301-620X.94B11.30679
- 4.** Safran MR, Seiber K. The evidence for surgical repair of articular cartilage in the knee. *J Am Acad Orthop Surg*. 2010;18(5):259–266. doi: 10.5435/00124635-201005000-00002

5. Huang G, Hua S, Yang T, et al. Platelet-rich plasma shows beneficial effects for patients with knee osteoarthritis by suppressing inflammatory factors. *Exp Ther Med.* 2018;15(3):3096–3102. doi: 10.3892/etm.2018.5794
6. Tsikopoulos K, Tsikopoulos I, Simeonidis E, et al. The clinical impact of platelet-rich plasma on tendinopathy compared to placebo or dry needling injections: a meta-analysis. *Phys Ther Sport.* 2016;17:87–94. doi: 10.1016/j.ptsp.2015.06.003
7. Zhou Z, Zheng J, Meng X, Wang F. Effects of electrical stimulation on articular cartilage regeneration with a focus on piezoelectric biomaterials for articular cartilage tissue repair and engineering. *Int J Mol Sci.* 2023;24(3):1836. doi: 10.3390/ijms24031836
8. Jooybar E, Abdekhodaie MJ, Alvi M, et al. An injectable platelet lysate-hyaluronic acid hydrogel supports cellular activities and induces chondrogenesis of encapsulated mesenchymal stem cells. *Acta Biomater.* 2019;83:233–244. doi: 10.1016/j.actbio.2018.10.031
9. Brittberg M, Lindahl A, Nilsson A, et al. Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation. *N Engl J Med.* 1994;331(14):889–895. doi: 10.1056/NEJM199410063311401
10. Brittberg M, Peterson L, Sjögren-Jansson E, et al. Articular cartilage engineering with autologous chondrocyte transplantation. A review of recent developments. *J Bone Joint Surg Am.* 2003;85-A Suppl. 3:109–115. doi: 10.2106/00004623-200300003-00017
11. Gonzalez-Fernandez P, Rodríguez-Nogales C, Jordan O, Allémann E. Combination of mesenchymal stem cells and bioactive molecules in hydrogels for osteoarthritis treatment. *Eur J Pharm Biopharm.* 2022;172:41–52. doi: 10.1016/j.ejpb.2022.01.003
12. Brittberg M. Cell carriers as the next generation of cell therapy for cartilage repair: a review of the matrix-induced autologous chondrocyte implantation procedure. *Am J Sports Med.* 2010;38(6):1259–1271. doi: 10.1177/0363546509346395
13. Mahapatra C, Jin GZ, Kim HW. Alginate-hyaluronic acid-collagen composite hydrogel favorable for the culture of chondrocytes and their phenotype maintenance. *Tissue Eng Regen Med.* 2016;13(5):538–546. doi: 10.1007/s13770-016-0059-1
14. Gigante A, Bevilacqua C, Ricevuto A, et al. Membrane-seeded autologous chondrocytes: cell viability and characterization at surgery. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2007;15(1):88–92. doi: 10.1007/s00167-006-0115-9
15. Russlies M, Behrens P, Wunsch L, et al. A cell-seeded bio-composite for cartilage repair. *Ann Anat.* 2002;184(4):317–323. doi: 10.1016/S0940-9602(02)80045-0
16. Zheng MH, Willers C, Kirilak L, et al. Matrix-induced autologous chondrocyte implantation (MACI): biological and histological assessment. *Tissue Eng.* 2007;13(4):737–746. doi: 10.1089/ten.2006.0246
17. Thermann H, Driessen A., Becher C. Autologous chondrocyte transplantation in the treatment of articular cartilage lesions of the talus. *Orthopade.* 2008;37(3):232–239. (In Germany). doi: 10.1007/s00132-008-1215-7
18. Riedl M, Vadalà G, Papalia R, Denaro V. Three-dimensional, scaffold-free, autologous chondrocyte transplantation: a systematic review. *Orthop J Sports Med.* 2020;8(9):2325967120951152. doi: 10.1177/2325967120951152
19. Meyer U, Wiesmann HP, Libera J, et al. Cartilage defect regeneration by ex vivo engineered autologous microtissue — preliminary results. *In Vivo.* 2012;26(2):251–257.
20. Jiang S, Guo W, Tian G, et al. Clinical application status of articular cartilage regeneration techniques: tissue-engineered cartilage brings new hope. *Stem Cells Int.* 2020;2020:5690252. doi: 10.1155/2020/5690252
21. Tan H, Marra KG. Injectable, biodegradable hydrogels for tissue engineering applications. *Materials (Basel).* 2010;3(3):1746–1767. doi: 10.3390/ma3031746
22. Schulze-Tanzil G. Activation and dedifferentiation of chondrocytes: implications in cartilage injury and repair. *Ann Anat.* 2009;191(4):325–338. doi: 10.1016/j.aanat.2009.05.003
23. Barisón M.J., MJ, Nogoceke R, Josino R, et al. Functionalized hydrogels for cartilage repair: the value of secretome-instructive signaling. *Int J Mol Sci.* 2022;23(11):6010. doi: 10.3390/ijms23116010
24. Heirani-Tabasi A, Hosseinzadeh S, Rabbani S, et al. Cartilage tissue engineering by co-transplantation of chondrocyte extracellular vesicles and mesenchymal stem cells, entrapped in chitosan-hyaluronic acid hydrogel. *Biomed Mater.* 2021;16(5):10.1088/1748-605X/ac0cbf. doi: 10.1088/1748-605X/ac0cbf
25. Wei W, Ma Y, Yao X, et al. Advanced hydrogels for the repair of cartilage defects and regeneration. *Bioact Mater.* 2020;6(4):998–1011. doi: 10.1016/j.bioactmat.2020.09.030
26. Huang J, Liu F, Su H, et al. Advanced nanocomposite hydrogels for cartilage tissue engineering. *Gels.* 2022;8(2):138. doi: 10.3390/gels8020138
27. Wu J, Chen Q, Deng C, et al. Exquisite design of injectable hydrogels in cartilage repair. *Theranostics.* 2020;10(21):9843–9864. doi: 10.7150/thno.46450
28. Schaeffer C, Pfaff BN, Cornell NJ, et al. Injectable microannealed porous scaffold for articular cartilage regeneration. *Ann Plast Surg.* 2020;84(6S Suppl. 5):S446–S450. doi: 10.1097/SAP.0000000000002271
29. Yang J, Zhang YS, Yue K, Khademhosseini A. Cell-laden hydrogels for osteochondral and cartilage tissue engineering. *Acta Biomater.* 2017;57:1–25. doi: 10.1016/j.actbio.2017.01.036
30. Fu N, Dong T, Meng A, et al. Research progress of the types and preparation techniques of scaffold materials in cartilage tissue engineering. *Curr Stem Cell Res Ther.* 2018;13(7):583–590. doi: 10.2174/1574888X12666170718152611
31. Pascual-Garrido C, Rodríguez-Fontan F, Aisenbrey EA, et al. Current and novel injectable hydrogels to treat focal chondral lesions: properties and applicability. *J Orthop Res.* 2018;36(1):64–75. doi: 10.1002/jor.23760
32. Zhu S, Li Y, He Z, et al. Advanced injectable hydrogels for cartilage tissue engineering. *Front Bioeng Biotechnol.* 2022;10:954501. doi: 10.3389/fbioe.2022.954501
33. Wang G, Cao X, Dong H, et al. A hyaluronic acid based injectable hydrogel formed via photo-crosslinking reaction and thermal-induced diels-alder reaction for cartilage tissue engineering. *Polymers (Basel).* 2018;10(9):949. doi: 10.3390/polym10090949
34. Uzielienė I, Bironaitė D, Pachaleva J, et al. Chondroitin sulfate-tyramine-based hydrogels for cartilage tissue repair. *Int J Mol Sci.* 2023;24(4):3451. doi: 10.3390/ijms24043451
35. Salehi S, Naghib SM, Garshasbi HR, et al. Smart stimuli-responsive injectable gels and hydrogels for drug delivery and tissue engineering applications: a review. *Front Bioeng Biotechnol.* 2023;11:1104126. doi: 10.3389/fbioe.2023.1104126
36. Jeznach O, Kołbuk D, Sajkiewicz P. Injectable hydrogels and nanocomposite hydrogels for cartilage regeneration. *J Biomed Mater Res A.* 2018;106(10):2762–2776. doi: 10.1002/jbm.a.36449

37. Naranjo-Alcazar R, Bendix S, Groth T, et al. Research progress in enzymatically cross-linked hydrogels as injectable systems for bioprinting and tissue engineering. *Gels*. 2023;9(3):230. doi: 10.3390/gels9030230
38. Unagolla JM, Jayasuriya AC. Hydrogel-based 3D bioprinting: a comprehensive review on cell-laden hydrogels, bioink formulations, and future perspectives. *Appl Mater Today*. 2020;18:100479. doi: 10.1016/j.apmt.2019.100479
39. Roehm KD, Madhally SV. Bioprinted chitosan-gelatin thermosensitive hydrogels using an inexpensive 3D printer. *Biofabrication*. 2017;10(1):015002. doi: 10.1088/1758-5090/aa96dd
40. Liu Geever LM, Kennedy JE, et al. Thermal behavior and mechanical properties of physically crosslinked PVA/Gelatin hydrogels. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2010;3(2):203–209. doi: 10.1016/j.jmbbm.2009.07.001
41. Adhikari Roy A, Das A, et al. Effects of processing parameters of 3d bioprinting on the cellular activity of bioinks. *Macromol Biosci*. 2021;21(1):e2000179. doi: 10.1002/mabi.202000179
42. Das S, Basu B. An overview of hydrogel-based bioinks for 3D bioprinting of soft tissues. *J Indian Inst Sci*. 2019;99(3):405–428.
43. Maiullari F, Costantini M, Milan M, et al. A multi-cellular 3D bioprinting approach for vascularized heart tissue engineering based on HUVECs and iPSC-derived cardiomyocytes. *Sci Rep*. 2018;8(1):13532. doi: 10.1038/s41598-018-31848-x
44. Mouser VHM, Levato R, Mensinga A, et al. Bio-ink development for three-dimensional bioprinting of hetero-cellular cartilage constructs. *Connect Tissue Res*. 2020;61(2):137–151. doi: 10.1080/03008207.2018.1553960
45. Poldervaart MT, Goversen B, de Ruijter M, et al. 3D bioprinting of methacrylated hyaluronic acid (MeHA) hydrogel with intrinsic osteogenicity. *PLoS One*. 2017;12(6):e0177628. doi: 10.1371/journal.pone.0177628
46. McHale MK, Setton LA, Chilkoti A. Synthesis and in vitro evaluation of enzymatically cross-linked elastin-like polypeptide gels for cartilaginous tissue repair. *Tissue Eng*. 2005;11(11-12):1768–1779. doi: 10.1089/ten.2005.11.1768
47. Xu Y, Xu Y, Bi B, et al. A moldable thermosensitive hydroxypropyl chitin hydrogel for 3D cartilage regeneration in vitro and in vivo. *Acta Biomater*. 2020;108:87–96. doi: 10.1016/j.actbio.2020.03.039
48. Ying H, Shen C, Pan R, et al. Strategy insight: mechanical properties of biomaterials' influence on hydrogel-mesenchymal stromal cell combination for osteoarthritis therapy. *Front Pharmacol*. 2023;14:1152612. doi: 10.3389/fphar.2023.1152612
49. Fu Y, Zoetebier B, Both S, et al. Engineering of optimized hydrogel formulations for cartilage repair. *Polymers (Basel)*. 2021;13(9):1526. doi: 10.3390/polym13091526
50. Jin Y, Koh RH, Kim SH, et al. Injectable anti-inflammatory hyaluronic acid hydrogel for osteoarthritic cartilage repair. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2020;115:111096. doi: 10.1016/j.msec.2020.111096
51. Tsanaktsidou E, Kammona O, Kiparissides C. Recent developments in hyaluronic acid-based hydrogels for cartilage tissue engineering applications. *Polymers (Basel)*. 2022;14(4):839. doi: 10.3390/polym14040839
52. Chen F, Yu S, Liu B, et al. An injectable enzymatically crosslinked carboxymethylated pullulan/chondroitin sulfate hydrogel for cartilage tissue engineering. *Sci Rep*. 2016;6:20014. doi: 10.1038/srep20014
53. Li J, Huang Y, Song J, et al. Cartilage regeneration using arthroscopic flushing fluid-derived mesenchymal stem cells encapsulated in a one-step rapid cross-linked hydrogel. *Acta Biomater*. 2018;79:202–215. doi: 10.1016/j.actbio.2018.08.029
54. Lin H, Beck AM, Shimomura K, et al. Optimization of photocrosslinked gelatin/hyaluronic acid hybrid scaffold for the repair of cartilage defect. *J Tissue Eng Regen Med*. 2019;13(8):1418–1429. doi: 10.1002/term.2883
55. Yu F, Cao X, Li Y, et al. An injectable hyaluronic acid/PEG hydrogel for cartilage tissue engineering formed by integrating enzymatic crosslinking and Diels–Alder “click chemistry”. *Polym Chem*. 2014;5(3):1082–1090. doi: 10.1039/c3py00869j
56. Park H, Choi B, Hu J, Lee M. Injectable chitosan hyaluronic acid hydrogels for cartilage tissue engineering. *Acta Biomater*. 2013;9(1):4779–4786. doi: 10.1016/j.actbio.2012.08.033
57. Płóczak M, Wasyleczko M, Jakutowicz T, et al. Intraarticular implantation of autologous chondrocytes placed on collagen or polyethersulfone scaffolds: an experimental study in rabbits. *Polymers (Basel)*. 2023;15(10):2360. doi: 10.3390/polym15102360
58. Hu M, Yang J, Xu J. Structural and biological investigation of chitosan/hyaluronic acid with silanized-hydroxypropyl methylcellulose as an injectable reinforced interpenetrating network hydrogel for cartilage tissue engineering. *Drug Deliv*. 2021;28(1):607–619. doi: 10.1080/10717544.2021.1895906
59. Chiang MY, Cheng IY, Chou SH, et al. A smart injectable composite hydrogel with magnetic navigation and controlled glutathione release for promoting in situ chondrocyte array and self-healing in damaged cartilage tissue. *J Mater Chem B*. 2021;9(45):9370–9382. doi: 10.1039/d1tb02030g
60. Fattahpour S, Shamanian M, Tavakoli N, et al. An injectable carboxymethyl chitosan-methylcellulose-pluronic hydrogel for the encapsulation of meloxicam loaded nanoparticles. *Int J Biol Macromol*. 2020;151:220–229. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.02.002
61. Qi C, Liu J, Jin Y, et al. Photo-crosslinkable, injectable sericin hydrogel as 3D biomimetic extracellular matrix for minimally invasive repairing cartilage. *Biomaterials*. 2018;163:89–104. Corrected and republished from: *Biomaterials*. 2021;278:121134. doi: 10.1016/j.biomaterials.2018.02.016
62. Onofrillo C, Duchi S, Francis S, et al. FLASH: Fluorescently Labeled Sensitive Hydrogel to monitor bioscaffolds degradation during neocartilage generation. *Biomaterials*. 2021;264:120383. doi: 10.1016/j.biomaterials.2020.120383
63. Oprea M, Voicu SI. Recent advances in composites based on cellulose derivatives for biomedical applications. *Carbohydr Polym*. 2020;247:116683. doi: 10.1016/j.carbpol.2020.116683
64. Yang Y, Lu YT, Zeng K, et al. Recent progress on cellulose-based ionic compounds for biomaterials. *Adv Mater*. 2021;33(28):e2000717. doi: 10.1002/adma.202000717
65. Mellati A, Hasanazadeh E, Gholipourmalekabadi M, Enderami SE. Injectable nanocomposite hydrogels as an emerging platform for biomedical applications: a review. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2021;131:112489. doi: 10.1016/j.msec.2021.112489
66. Boyer C, Figueiredo L, Pace R, et al. Laponite nanoparticle-associated silylated hydroxypropylmethyl cellulose as an injectable reinforced interpenetrating network hydrogel for cartilage tissue engineering. *Acta Biomater*. 2018;65:112–122. doi: 10.1016/j.actbio.2017.11.027

67. Boyer C, Réthoré G, Weiss P, et al. A self-setting hydrogel of silylated chitosan and cellulose for the repair of osteochondral defects: from in vitro characterization to preclinical evaluation in dogs. *Front Bioeng Biotechnol.* 2020;8:23. doi: 10.3389/fbioe.2020.00023
68. Zoetebier B, Schmitz TC, Ito K, et al. Injectable hydrogels for articular cartilage and nucleus pulposus repair: status quo and prospects. *Tissue Eng Part A.* 2022;28(11-12):478–499. doi: 10.1089/ten.TEA.2021.0226
69. Al-Sabah A, Burnell SEA, Simoes IN, et al. Structural and mechanical characterization of crosslinked and sterilised nanocellulose-based hydrogels for cartilage tissue engineering. *Carbohydr Polym.* 2019;212:242–251. doi: 10.1016/j.carbpol.2019.02.057
70. Guo X, Xi L, Yu M, et al. Regeneration of articular cartilage defects: therapeutic strategies and perspectives. *J Tissue Eng.* 2023;14:20417314231164765. doi: 10.1177/20417314231164765
71. Schneider MC, Chu S, Randolph MA, Bryant SJ. An in vitro and in vivo comparison of cartilage growth in chondrocyte-laden matrix metalloproteinase-sensitive poly(ethylene glycol) hydrogels with localized transforming growth factor β 3. *Acta Biomater.* 2019;93:97–110. doi: 10.1016/j.actbio.2019.03.046
72. Bozhokin MS, Sopova YV, Kachkin DV, et al. Mechanisms of TGF β 3 action as a therapeutic agent for promoting the synthesis of extracellular matrix proteins in hyaline cartilage. *Biochemistry (Mosc).* 2020;85(4):436–447. doi: 10.1134/S0006297920040045
73. Chen Wei L, Su X, et al. Preparation and characterization of biomimetic functional scaffold with gradient structure for osteochondral defect repair. *Bioengineering (Basel).* 2023;10(2):213. doi: 10.3390/bioengineering10020213
74. Bianchi VJ, Lee A, Anderson J, et al. Redifferentiated chondrocytes in fibrin gel for the repair of articular cartilage lesions. *Am J Sports Med.* 2019;47(10):2348–2359. doi: 10.1177/0363546519857571
75. Losi P, Briganti E, Sanguinetti E, Briganti E. Healing effect of a fibrin-based scaffold loaded with platelet lysate in full-thickness skin wounds. *J Bioact Compat Polym.* 2015;30(2):222–237. doi: 10.1177/0883911514568436
76. Bolandi B, Imani R, Bonakdar S, Fakhrzadeh H. Chondrogenic stimulation in mesenchymal stem cells using scaffold-based sustained release of platelet-rich plasma. *J Appl Polym Sci.* 2021;138(12): 50075. doi: 10.1002/app.50075
77. Wu S, Guo W, Li R, et al. Progress of platelet derivatives for cartilage tissue engineering. *Front Bioeng Biotechnol.* 2022;10:907356. doi: 10.3389/fbioe.2022.907356
78. Yan W, Xu X, Xu Q, et al. Platelet-rich plasma combined with injectable hyaluronic acid hydrogel for porcine cartilage regeneration: a 6-month follow-up. *Regen Biomater.* 2020;7(1):77–90. doi: 10.1093/rb/rbz039
79. Li Y, Wang X, Han Y, et al. Click chemistry-based biopolymeric hydrogels for regenerative medicine. *Biomed Mater.* 2021;16(2):022003. doi: 10.1088/1748-605X/abc0b3
80. Tang Q, Lim T, Shen LY, et al. Well-dispersed platelet lysate entrapped nanoparticles incorporate with injectable PDLLA-PEG-PDLLA triblock for preferable cartilage engineering application. *Biomaterials.* 2021;268:120605. doi: 10.1016/j.biomaterials.2020.120605
81. Rojas-Murillo JA, Simental-Mendía MA, Moncada-Saucedo NK, et al. Physical, mechanical, and biological properties of fibrin scaffolds for cartilage repair. *Int J Mol Sci.* 2022;23(17):9879. doi: 10.3390/ijms23179879
82. Berninger MT, Wexel G, Rummery EJ, et al. Treatment of osteochondral defects in the rabbit's knee joint by implantation of allogeneic mesenchymal stem cells in fibrin clots. *J Vis Exp.* 2013;(75):e4423. doi: 10.3791/4423
83. Dahlgren LA. Cartilage resurfacing: unresolved enigma. Commentary on an article by Goodrich LR, et al.: Addition of mesenchymal stem cells to autologous platelet-enhanced fibrin scaffolds in chondral defects. does it enhance repair? *J Bone Joint Surg Am.* 2016;98(1):e5. doi: 10.2106/JBJS.O.00925
84. Binder H, Hoffman L, Zak L, et al. Clinical evaluation after matrix-associated autologous chondrocyte transplantation: a comparison of four different graft types. *Bone Joint Res.* 2021;10(7):370–379. doi: 10.1302/2046-3758.107.BJR-2020-0370.R1
85. Eschen C, Kaps C, Widuchowski W, et al. Clinical outcome is significantly better with spheroid-based autologous chondrocyte implantation manufactured with more stringent cell culture criteria. *Osteoarthritis Cartil Open.* 2020;2(1):100033. doi: 10.1016/j.ocrarto.2020.100033
86. Madeira C, Santhagunam A, Salgueiro JB, Cabral JM. Advanced cell therapies for articular cartilage regeneration. *Trends Biotechnol.* 2015;33(1):35–42. doi: 10.1016/j.tibtech.2014.11.003
87. Inui A, Iwakura T, Reddi AH. Human stem cells and articular cartilage regeneration. *Cells.* 2012;1(4):994–1009. doi: 10.3390/cells1040994
88. Ereemeev AV, Zubkova OA, Ruchko ES, et al. Key parameters of autologous biomedical product for cartilage tissue repair. *Medicine of Extreme Situations.* 2020;22(4):59–66. EDN: OQVWAH doi: 10.47183/mes.2020.014
89. Zhou S, Bei Z, Wei J, et al. Mussel-inspired injectable chitosan hydrogel modified with catechol for cell adhesion and cartilage defect repair. *J Mater Chem B.* 2022;10(7):1019–1030. doi: 10.1039/d1tb02241e
90. Lietman SA. Induced pluripotent stem cells in cartilage repair. *World J Orthop.* 2016;7(3):149–155. doi: 10.5312/wjo.v7.i3.149
91. Kimura T, Yamashita A, Ozono K, Tsumaki N. Limited Immunogenicity of human induced pluripotent stem cell-derived cartilages. *Tissue Eng Part A.* 2016;22(23-24):1367–1375. doi: 10.1089/ten.TEA.2016.0189
92. Chen W, Li C, Peng M, et al. Autologous nasal chondrocytes delivered by injectable hydrogel for in vivo articular cartilage regeneration. *Cell Tissue Bank.* 2018;19(1):35–46. doi: 10.1007/s10561-017-9649-y
93. Wu CL, Dicks A, Steward N, et al. Single cell transcriptomic analysis of human pluripotent stem cell chondrogenesis. *Nat Commun.* 2021;12(1):362. doi: 10.1038/s41467-020-20598-y
94. Bogomyakova ME, Ereemeev AV, Lagarkova MA. At home among strangers: is it possible to create hypoimmunogenic pluripotent stem cell lines? *Molecular Biology.* 2019;53(5): 638–652. EDN: ODQOJP doi: 10.1134/S0026898419050045

ОБ АВТОРАХ

* **Голубинская Полина Александровна**, канд. мед. наук;
адрес: Россия, 119435, Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1а;
ORCID: 0000-0002-1765-9042;
eLibrary SPIN: 5299-9693;
e-mail: polinapigeon@gmail.com

Пикина Арина Сергеевна;
ORCID: 0000-0002-8967-2318;
eLibrary SPIN: 8654-7318;
e-mail: arina.pikina@yandex.ru

Ручко Евгений Сереевич;
ORCID: 0000-0002-1361-666X;
eLibrary SPIN: 7220-6031;
e-mail: ruchkoevgeny@yandex.ru

Владимирова Татьяна Викторовна;
ORCID: 0009-0001-9266-2065;
e-mail: tat.vlad24@gmail.com

Богомазова Александра Никитична, канд. биол. наук;
ORCID: 0000-0003-1549-1984;
eLibrary SPIN: 8093-8009;
e-mail: abogomazova@rcpcm.org

Еремеев Артём Валерьевич, канд. биол. наук;
ORCID: 0000-0002-3428-7586;
eLibrary SPIN: 4825-5440;
e-mail: art-eremeev@yandex.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

AUTHORS' INFO

* **Polina A. Golubinskaya**, MD, Cand. Sci. (Medicine);
address: 1a Malaya Pirogovskaya street, 119435 Moscow, Russia;
ORCID: 0000-0002-1765-9042;
eLibrary SPIN: 5299-9693;
e-mail: polinapigeon@gmail.com

Arina S. Pikina;
ORCID: 0000-0002-8967-2318;
eLibrary SPIN: 8654-7318;
e-mail: arina.pikina@yandex.ru

Eugene S. Ruchko;
ORCID: 0000-0002-1361-666X;
eLibrary SPIN: 7220-6031;
e-mail: ruchkoevgeny@yandex.ru

Tatiana V. Vladimirova;
ORCID: 0009-0001-9266-2065;
e-mail: tat.vlad24@gmail.com

Alexandra N. Bogomazova, Cand. Sci. (Biology);
ORCID: 0000-0003-1549-1984;
eLibrary SPIN: 8093-8009;
e-mail: abogomazova@rcpcm.org

Artem V. Ereemeev, PhD; Cand. Sci. (Biology);
ORCID: 0000-0002-3428-7586;
eLibrary SPIN: 4825-5440;
e-mail: art-eremeev@yandex.ru