

## Некоторые особенности имплантации в условиях применения клеточных технологий

И. В. Майбородин<sup>1</sup>, С. В. Хоменюк<sup>1</sup>, Т. В. Михеева<sup>1</sup>, Г. Ю. Ярин<sup>2</sup>, В. И. Майбородина<sup>3</sup>,  
М. К. Агзаев<sup>1</sup>, И. А. Вильгельми<sup>2</sup>, А. И. Шевела<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,

<sup>2</sup>Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии МЗ РФ,

<sup>3</sup>Институт молекулярной патологии и патоморфологии,

Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины МНВО РФ, г. Новосибирск

## Some peculiarities of implantation in conditions of application of cellular technologies

I. V. Maiborodin<sup>1</sup>, S. V. Khomenyuk, T. V. Mikheeva<sup>1</sup>, G. Yu. Yarin<sup>2</sup>, V. I. Maiborodina<sup>3</sup>,  
M. K. Agzaev<sup>1</sup>, I. A. Vilgelmi<sup>2</sup>, A. I. Shevela<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine,

<sup>2</sup>Novosibirsk Scientific-Research Institute of Traumatology and Orthopedics,

<sup>3</sup>Institute of Molecular Pathology and Pathomorphology,

Federal Research Centre of Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk

*Введение.* Стратегии современной регенеративной медицины, в первую очередь направленные на поддержание и восстановление соответствующей анатомической и функциональной целостности организма и способствующие тканеспецифической репарации, часто включают применение синтетического или биологического материала, пригодного для имплантации [1]. За последние несколько десятилетий произошел прогрессивный сдвиг в парадигме, заменивший представления об имплантатах тела как инертных биоматериалах [2].

Реакция инородного тела на медицинские устройства и материалы, внедренные в организм человека, включающая образование рубцов, фиброзной капсулы и возможное отторжение и являющаяся давней и серьезной клинической проблемой – это конечная стадия воспалительного процесса и заживления раны после имплантации. События при реакции инородного тела включают адсорбцию белка, адгезию моноцитов/макрофагов, слияние макрофагов с образованием гигантских клеток инородных тел и последствия этих изменений. Свойства поверхности имплантата играют важную роль в модулировании реакции инородного тела в первые 2 – 4 нед после внедрения медицинского изделия, даже если такая реакция на границе раздела ткань/материал присутствует в течение всего срока службы имплантата *in vivo*. Тканевой ответ может влиять на биосовместимость и безопасность медицинского устройства или имплантированного материала и в значительной мере определяет кратковременные и долгосрочные результаты самой процедуры имплантации [3, 4].

Не существует широко приемлемых, общепринятых или безопасных методов уменьшения выраженности реакций инородного тела. В результате подобных ответов возникают клинические осложнения, такие как обезображивание силиконовых протезов и потеря функции имплантированных кардиостимуляторов, стентов и шунтов. Клеточные имплантаты и мультиметные стромальные клетки (МСК), помещенные в организм, также подвержены реакции ино-

родного тела, порождающей дополнительную проблему, заключающуюся в том, что регенеративное восстановление, которое должен вызывать трансплантат, может быть ингибировано [4].

Минимизацию реакции инородного тела рассматривают как одну из важнейших исследовательских стратегий для имплантатов, особенно когда они предназначены для мозга [5]. Следует отметить, что даже аутологичные полимеры, например фибриновый сгусток, могут быть причиной развития реакций инородного тела, таких как образование многоядерных макрофагов со слившейся цитоплазмой и формирование гранулем [6]. Управление реакциями организма на имплантированные материалы, медицинские устройства, инженерные конструкции или МСК было бы принципиально важным терапевтическим достижением [4].

Широкое распространение клеточных технологий рано или поздно неизбежно приведет к введению МСК или их экзосом лицам, имеющим в организме имплантированные искусственные материалы, приживление которых сопровождается сначала острым, а затем хроническим воспалением, очень часто приобретающим гранулематозный характер. Воспалительные реакции тканей на биоматериалы, которые могут привести к развитию фиброзной капсулы, имеют серьезные последствия в тканевой инженерии, когда прикрепленные МСК и биологически активные компоненты отделяются от нативной ткани, ограничивая регенеративный потенциал конструкции. Кроме того, эти взаимодействия предотвращают желаемую интеграцию ткани и ангиогенез [7, 8].

МСК считают перспективными клеточными терапевтическими средствами в области тканевой инженерии и регенеративной медицины, они могут изменять воспалительные реакции и улучшать заживление после острого повреждения в процессе имплантации. Включение МСК в тканевые или регенеративные подходы открывает множество других проблем имплантологии. МСК секретируют в высоких концентрациях иммуномодулирующие цитокины и фак-

торы роста, в частности фактор роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor – VEGF), фактор роста гепатоцитов (hepatocyte growth factor – HGF) и фактор роста фибробластов (fibroblast growth factor – FGF), способствующие ревазуляризации и оказывающие паракринное действие на иммунокомпетентные и резидентные клетки в микроокружении раны. Снижение активности воспалительной реакции теоретически может улучшить результаты имплантации. Глубокое понимание того, как иммунная система взаимодействует с МСК и как биоматериалы или тканеинженерные конструкции влияют на эти взаимодействия, может оказаться решающим для безопасности, биосовместимости и функционирования внедренных в организм устройств или систем [3, 7, 8 – 10].

*Общие аспекты взаимодействия МСК с инородным телом.* Имплантированные материалы индуцируют воспалительную реакцию, известную как реакция инородного тела. Эта реакция инициируется адгезией макрофагов и приводит к образованию гранулем. Возможно, что в их образовании также играют роль МСК. Не исключено, что определенные клетки костного мозга могут дифференцироваться в клеточные элементы, похожие на миофибробласты с сократительными фибриллами и протеинами [11, 12].

Бесклеточные фотоокисленные участки перикарда крупного рогатого скота имплантировали внутривентриально крысам и извлекали в сроки от 6 ч до 7 дней. Была обнаружена значительная доля МСК/клеток-предшественников Sca-1+ (6 ч – 2 дня), c-kit+, CD34+ и CD271+ (2 – 3 дня). Показана способность этих МСК к формированию колоний и дифференцированию в адипо-, остео- и миофибробласты. Наличие таких клеток и их потенциал к дифференцированию в миофибробласты были также подтверждены на уровне РНК [12].

Происхождение фибробластоподобных клеток капсул вокруг инородных тел в селезенке, печени, брюшной полости, подкожной соединительной ткани мышей, локализацию клеток-предшественников, их пролиферативные способности и способность к миграции изучали с использованием <sup>3</sup>H-тимидина. Клетки-предшественники интенсивно пролиферируют за пределами внутриорганной соединительной ткани, предположительно в кроветворных органах типа костного мозга, и мигрируют через кровеносное русло в ткани (очаги воспаления), где завершают свое дифференцирование [13].

Имплантированные биоматериалы и биомедицинские устройства, как правило, вызывают реакцию инородного тела, заканчивающуюся инкапсуляцией плотным аваскулярным фиброзным слоем, обогащенным внеклеточным матриксом. Считают, что фибробласты/миофибробласты являются основным типом клеток, участвующих в инкапсуляции. Взрослые стволовые клетки Sox10+ способны как инкапсуляции, так и образованию микрососудов. Но такие стволовые клетки редко обнаруживали в строме подкожной рыхлой соединительной ткани. После подкожной имплантации биоматериала стволовые клетки Sox10+ активируются и рекрутируются на поверхности биоматериала, дифференцируются в фибробласты, а затем в миофибробласты. Этот процесс дифференцирования от стволовых клеток Sox10+ к миофибробластам может быть воспроизведен *in vitro*. С другой стороны, стволовые клетки Sox10+ могут дифференцироваться в периваскулярные клетки для ста-

билизации новообразованных микрососудов. Стволовые клетки Sox10+ и эндотелиальные клетки в трехмерной совместной культуре собирались в микрососуды, а полученный из тромбоцитов фактор роста (platelet-derived growth factor – PDGF) оказывал хемотаксическое действие на стволовые клетки Sox10+ [14].

Тканевые инженерные конструкции и другие твердые имплантаты для биомедицинского применения, такие как устройства для доставки лекарств или биоискусственные органы, нуждаются в притоке кислорода для нормального функционирования окружающих тканей. Считают, что при рутинной имплантации васкуляризация является результатом реакции на инородное тело, а при использовании клеточных технологий ангиогенез индуцируется паракринными стимулами, продуцируемыми МСК [15].

Тромбогенность инородных поверхностей – основное препятствие при внедрении имплантатов, особенно при протезировании сосудистых и сердечных структур. Несмотря на огромный прогресс в исследованиях биоматериалов, гемосовместимость изделий все еще остается неудовлетворительной, нативный эндотелий пока представляет собой идеальную поверхность для контакта с кровью. Циркулирующие в крови взрослые эндотелиальные прогениторные клетки являются превосходным источником для самоэндотелиализации *in vivo* контактирующих с кровью материалов. Для этого на поверхность материала могут быть нанесены молекулы захвата, имитирующие естественные факторы самонаведения, с целью привлечения циркулирующих эндотелиальных прогениторов. Впоследствии привлеченные предшественники могут дифференцироваться в эндотелиальные клетки и генерировать типичный эндотелий. Самоэндотелиализация *in vivo* контактирующих с кровью материалов препятствует распознаванию их как инородных тел. Это открывает новые революционные перспективы для будущих клинических стратегий инженерии стволовых клеток и тканей [16].

Имплантация матриц для МСК может вызывать реакции инородного тела, запускаемые моноцитами/макрофагами. Исследовали, могут ли топографические особенности поверхности регулировать паракринные взаимодействия, которые МСК устанавливают с макрофагами. Трехмерное расположение стимулирует МСК к выработке противовоспалительных белков, простагландина E2 (PGE2) и фактора некроза опухоли – tumor necrosis factor (TNF)-stimulated gene 6 protein (TSG-6). По сравнению с двухмерным, трехмерное расположение МСК, совместно культивированных с макрофагами, приводит к значительному снижению секреции факторов, связанных с воспалением и хемотаксисом, включая интерлейкин – 6 (IL-6) и MCP-1 (Monocyte Chemoattractant Protein 1) или CCL2 (C-C motif ligand 2) – цитокин, который относится к группе CC-хемокинов ( $\beta$ -хемокинов) и является наиболее мощным фактором хемотаксиса моноцитов в организме млекопитающих, осуществляет контроль за эгрессом клеток из кроветворных органов, их трафиком к фокусам воспаления. CC-хемокиновый рецептор 1 (CCR1) экспрессируется в нейтрофилах, моноцитах, лимфоцитах и эозинофилах и связывает хемоаттрактант для лейкоцитов и регулятор воспалительного белка макрофагов-1 $\alpha$ , а также некоторые родственные CC-хемокины. CCR1 влияет на воспалительный ответ не только посредством прямого воздействия на хемотак-

сис лейкоцитов, но и через воздействие на баланс цитокинов 1–го и 2–го типов. Таким образом, CCR1 выполняет нередуцируемые функции при кроветворении, защите хозяина и воспалении [17].

Ослабление секреции MCP–1 в 3D–культурах коррелирует с уменьшением накопления его мРНК в МСК и макрофагах. Используя нейтрализующие антитела, определили, что взаимодействие между PGE2, IL–6, TSG–6 и MCP–1 в совместных культурах сильно зависит от микроархитектуры, поддерживаемой МСК. Локальная среда, обеспечиваемая 3D–расположенными МСК в совместных культурах, вызывает уменьшение миграции моноцитов по сравнению с однослойно расположенными МСК. Этот эффект частично опосредован снижением уровней IL–6 и MCP–1, белков, которые усиливают секрецию друг друга [18].

Реакция инородного тела на биоматериалы ухудшает работу многих биомедицинских устройств из–за сильного фиброза и ограниченной неоваскуляризации. Исследовали возможность паракринных продуктов МСК жировой ткани влиять на микроокружение биоматериалов и изменять реакцию тканей на их имплантацию. Модельная система была построена путем загрузки сфероидов МСК в устройство для макроинкапсулирования, состоящее из фильтрующих мембран из политетрафторэтилена. Растворимые факторы МСК, которые мигрировали из устройства *in vitro*, способствовали ангиогенной активности эндотелиальных клеток и влияли на секрецию макрофагов. *In vivo* подкожно крысам вводили пустые устройства или с МСК. По истечении 4 нед после имплантации конструкции с МСК были лучше васкуляризованы и вызывали значительно меньшее образование фиброзной ткани по сравнению с пустыми устройствами [19].

Достаточно много имплантатов изготавливают из металлов, их широкое применение обусловлено прочностью, жесткостью, стойкостью к коррозии и износу. Влияние физико–химических свойств никелида титана с приповерхностными слоями, модифицированными ионами кремния или тантала, изучали на культивируемых *in vitro* МСК костного мозга крысы. Методами конфокальной лазерной сканирующей микроскопии, световой микроскопии, митохондриального тетразолиевого теста показано, что ионно–плазменная модификация приповерхностных слоев никелида титана ионами кремния или тантала улучшает цитосовместимость указанного соединения и не оказывает цитотоксического действия [20].

Возможно культивирование и размножение стволовых клеток, полученных из гранул, образовавшихся вокруг перфорированных поливиниловых трубок, помещенных в подкожное пространство крыс. Эти клеточные элементы экспрессируют маркеры эмбриональных плюрипотентных клеток (Oct–4 и Nanog) и взрослых стволовых клеток (CXCR4 и Thy1.1), а также до 10 пассажей продуцируют высокий уровень VEGF. Поверхностные маркеры этих клеток CD90, CD59 и CD44 были положительными, а CD45 – отрицательным. Это позволяет предположить, что данные клеточные элементы имеют мезенхимальное, а не гематопозитическое происхождение. При инкубации в специфической среде они дифференцировались в адипо–, остео– и хондрогенные линии, что доказывает их мультипотентность. Кроме того, после системного введения эти клетки обнаруживали вблизи поврежденного участка, созданного в

печени, но не в нормальных участках печени. Это указывает на их склонность к хомингу и приживлению в поврежденном участке организма. Хомингом (от англ. home – дом) в молекулярной биологии принято называть некоторые формы поведения клеток, которые возвращаются в «исходное местообитание». Хоминг свойственен Т–лимфоцитам, которые после созревания в тимусе возвращаются в лимфатические узлы, а также гемопоэтическим стволовым клеткам, например, при пересадках костного мозга – после введения в организм реципиента взвеси стволовых клеток донора последние возвращаются в костный мозг.

Таким образом, гранулемы, индуцированные крупными инородными телами, являются удобным источником стволовых клеток, которые могут поддерживаться в культуре и использоваться для восстановления и регенерации поврежденных тканей [21].

Важным для понимания механизмов канцерогенеза, индуцируемого инородными телами, или «пластмассового» канцерогенеза, представляется вопрос о нормальных клетках–предшественниках сарком, возникающих в непосредственной близости от имплантированной под кожу экспериментального животного пластмассовой пластинки. Возможно происхождение клеток–предшественников сарком из клеток эндотелия сосудов, питающих соединительнотканную капсулу, образующуюся вокруг инородного тела, в частности, из эндотелиальных клеток, перидцитов и из полипотентных МСК [22].

Имплантация инородного тела (пластинок из поливинилхлорида) индуцировала развитие сарком у мышей. Клетки–предшественники саркомы находились среди клеток мезенхимы, покрывавшего поверхность пластинки, еще без признаков роста опухоли через 6 мес и более после имплантации. Исследовали наличие признаков эндотелия у клеток мезенхимного типа, выращенных при культивировании клеток с поверхности имплантированной пластинки, через 9 и 14 мес после имплантации. Было показано, что полученные клетки действительно являлись предшественниками сарком, хотя и обладали разным опухолевым потенциалом в зависимости от срока с момента имплантации [23].

Таким образом, в настоящее время в тканевой инженерии все еще нет полной ясности в понимании механизмов взаимодействия между МСК, факторами роста и имплантированными материалами. В литературе практически нет обобщенных данных о влиянии МСК на процессы инкапсуляции инородных тел, нет результатов, описывающих, как меняется цитокиновый профиль МСК рядом с инородным телом и как эти изменения функций и активности МСК влияют на другие иммунокомпетентные клетки, участвующие в реакциях инородного тела.

*Использование коллагена в качестве матрицы для МСК.* МСК являются привлекательными кандидатами для регенеративной терапии благодаря их способности дифференцироваться в любом направлении и положительно влиять на клеточное окружение. Однако при имплантации для реконструкции раны эти клетки погибают, так как на них воздействуют неспецифические сигналы воспаления, генерируемые в среде раны и в ответ на любое имплантированное инородное тело. МСК, выращенные на компоненте внеклеточного матрикса Tenascin–C и коллагене I (так как Tenascin сам по себе является антиадгезивным), показали преимущество в выживании в присутствии смертельных цитокинов, таких как FasL [24].

МСК, полученные из жировой ткани, культивировали на пористых коллагеновых микрогранулах, достаточно малых для инъекции, во вращающейся колбе. Клетки прикреплялись и размножались на микрошариках и сохраняли высокую жизнеспособность в течение нескольких недель культивирования. При воздействии адипо- или остеогенной среды культивируемые клетки дифференцировались в адипоциты и остеобласты соответственно [25].

Биоматрицы, усиливающие приживление трансплантированных моноклеарных клеток костного мозга, имеют огромный потенциал для применения в регенерации тканей. Тем не менее, разработка соответствующих материалов для их доставки в организм является сложной задачей, учитывая необходимость создания строго определенного микроокружения, необходимого для поддержки приживания и функционирования таких клеточных элементов. Моноклеары костного мозга вводили в хвостовую вену мышам. Кривые люцифераза-зависимой клеточной биолуминесценции показали, что инъецированные клетки были сконцентрированы в местах подкожной раны в течение 1-го дня. Дальнейшая иммуногистохимическая характеристика продемонстрировала, что эти меченые клеточные элементы вызывали функциональные изменения за счет увеличения количества иммунокомпетентных клеток, присутствующих в ранние сроки, и ремоделирования клеточных фенотипов в более поздние сроки. Подкожно имплантировали каркасы с чистым поликапролактоном и в сочетании с коллагеном. После внутривенной инъекции моноклеаров иммуногистохимический анализ выявил высокую плотность экзогенных клеточных элементов по периферии поликапролактоновых матриц, что согласуется с классическим ответом инородного тела. При использовании поликапролактона с коллагеном получали улучшенный биологический ответ. Важно отметить, что эти различия были тесно связаны с кривыми биолуминесценции в реальном времени, причем матрицы с коллагеном демонстрировали увеличение максимальной биолуминесценции в 2 раза по сравнению с чистым поликапролактоном [26].

Биологический ответ на имплантированные материалы является сложным и высокоскоординированным явлением, вовлекающим множество различных типов клеток, которые взаимодействуют в трехмерном микроокружении. Первичные макрофаги человека приводили к наибольшему привлечению фибробластов при взаимодействии с матрицами из хитозана, но не с полимером молочной кислоты (ПМК) – полилактоидом. Интересно, что когда в одной среде присутствовали МСК и фибробласты, макрофаги в хитозановых матрицах снова способствовали значительному увеличению рекрутирования фибробластов, но не МСК. Однако макрофаги, которым сначала было позволено взаимодействовать с МСК внутри скаффолдов, больше не могли рекрутировать фибробласты. Системы прогнозирования *ex vivo* должны учитывать различные компоненты систем, вовлеченных в биологический ответ на имплантат, время миграции определенных типов клеток также влияет на результат [27].

Считают, что ограниченная эффективность клеточной терапии обусловлена плохим удержанием клеток в необходимых тканях. Следовательно, существует насущная потребность в биоматериалах, которые помогают в длительном присутствии клеточных элементов в месте примене-

ния. Возможно, перспективной окажется разработка инъекционных микрокапсул для доставки МСК в определенный участок организма. Эти микрокапсулы содержат низкие концентрации агарозы, дополненной белками внеклеточного матрикса, коллагеном и фибрином. Декстрансульфат, отрицательно заряженный поликарбонат, добавляли к имитаторам гликозаминогликанов в микрокапсулах. Анализ жизнеспособности клеток показал, что комбинация всех компонентов необходима для поддержания долгосрочной выживаемости и пролиферации МСК в таких конструкциях. После трансплантации микрокапсулы медленно распадаются и не вызывают фиброзной реакции инородного тела. Предварительная маркировка инкапсулированных МСК наночастицами оксида железа позволила продолжить отслеживание клеток с помощью магнитно-резонансной томографии в течение нескольких недель после трансплантации в ткани. Напротив, МСК, инъецированные в виде клеточной суспензии, присутствовали только в течение 2 дней после введения. Гистологический анализ подтвердил интеграцию трансплантированных клеток в месте инъекции [28].

Тканевая инженерия с использованием биоразлагаемых матриц с МСК предлагает новый подход к регенерации костей, который может обойти многие ограничения современных методов лечения. Пятимиллиметровые дефекты критического размера были созданы в костях черепа крыс линии Вистар. Дефекты оставляли пустыми (в качестве контроля) или заполняли бесклеточными коллаген-гликозаминогликановыми матрицами, либо матрицами с МСК, которые содержались в стандартной культуральной среде, либо матрицами с МСК, которые поддерживались в среде с остеоиндуктивным фактором. Животных выводили из эксперимента через 7 дней после операции. В то время как дефекты в контрольной группе заживали посредством образования фиброзной ткани, коллаген-гликозаминогликановый скаффолд в тестовых группах сохранял трехмерную форму дефектов. Через 7 дней *in vivo* матрица сохранила свою целостность и, по-видимому, была заполнена клетками реципиента. Матрицы с МСК вызывали более выраженный воспалительный ответ, ангиогенез и области раннего формирования костной ткани по сравнению с матрицами без клеток [29].

Регенераторный потенциал новой биоактивной композитной матрицы стекло-коллаген-гиалуроновая кислота-фосфатидилсерин с МСК был исследован на модели дефекта костной ткани крыс. Меченые HrgFP МСК культивировали в течение 2 нед на указанной матрице перед имплантацией в дефект. В качестве контроля использовали бесклеточный композит и нелеченый дефект кости. Композитная матрица индуцировала слабый воспалительный ответ и реакцию инородного тела в течение 3 нед. К 6-й неделе эти реакции исчезли после рассасывания скаффолдов и образования новой кости. По сравнению с чистой матрицей или нелеченым дефектом кости применение МСК значительно повысило эффективность образования новой костной ткани и биомеханические свойства бедренной кости. Кроме того, трансплантированные МСК на такой матрице могут выживать до 3 нед или дольше [30].

В качестве заменителей кожи доступны несколько материалов. Однако необходимы новые стратегии для улучшения лечения кожных ран. Исследовали совместимость нового устройства, состоящего из ПМК-гликолевой кис-

лоты и коллагена, связанных с МСК жировой ткани человека. Предварительное исследование *in vivo* проводили на свиньях, регенерацию ткани оценивали макроскопически и гистологически, в качестве контроля использовали коммерческое изделие «Integra». Двухслойный материал из ПМК и коллагена обеспечивал клеточную адгезию и пролиферацию, что делает его потенциально полезным клеточным носителем. Кроме того, прозрачность материала позволяла контролировать дефект тканей при смене повязок. Ксеногенные МСК, культивированные на таком устройстве, продемонстрировали сниженную гранулематозную реакцию на бычий коллаген, увеличение числа новообразованных кровеносных сосудов и организацию коллагена, сравнимую с нормальной кожей. Разработанный двухслойный полимер с МСК превосходил другие протестированные материалы (такой же полимер без МСК и «Integra») по своей способности стимулировать образование новой кожной ткани [31].

По-видимому, коллагеновые изделия являются одними из оптимальных матриц для доставки МСК в различные ткани организма. Коллаген предохраняет МСК от повреждающих факторов, которых очень много при раневом процессе, сопровождающем саму операцию по внедрению коллагена с МСК. Соответственно увеличивается процент выживших клеточных элементов и создаются оптимальные условия для их взаимодействия с иммунокомпетентными клетками реципиентного организма. Практически все исследователи сообщают, как коллагеновые матрицы действуют на МСК и как эти МСК работают в тканях. Вместе с этим нет данных, как эти МСК действуют на сам коллаген: ускоряют или замедляют его деградацию, усиливают или супрессируют воспалительную реакцию на его внедрение и присутствие в тканях в качестве инородного тела.

*Реакции организма на имплантацию хирургических сеток с МСК.* Хирургические сетки часто используют для лечения грыж живота, выпадения тазовых органов и стрессового недержания мочи. Благодаря достижениям в области конструирования материалов, в настоящее время появился широкий спектр новых материалов для ускорения репарации тканей в медицине и реконструктивной хирургии тазовой области. Хотя такие сетки предназначены для укрепления тканей, было зарегистрировано много осложнений, клинические результаты противоречивы, а отдаленные осложнения изнурительны. В связи с этим растет интерес к биоразлагаемым матрицам с клеточным покрытием. Как дифференцированные клеточные элементы, так и терапия на основе МСК стали привлекательными инструментами для улучшения биосовместимости и тканевой интеграции этих изделий, с помощью которых сводят к минимуму неблагоприятные воспалительные реакции. Предполагается, что клеточный компонент помогает регенерировать тканям реципиента, в то время как матрица обеспечивает временные механические свойства. Однако текущие исследования являются весьма неоднородными, что затрудняет сравнение между типами клеточных элементов или методологиями создания покрытия из клеток. Более того, несколько экспериментов, выполненных на клинически значимых моделях животных, дали противоречивые результаты [32, 33].

Долгосрочное преимущество лечения пролапса тазовых органов с имплантацией синтетической сетки является спорным из-за осложнений, таких как воздействие сет-

ки или боль. Использование синтетических материалов также может привести к нарушению механического соответствия *in vivo* в результате реакции инородного тела, приводящей к чрезмерному образованию рубцовой ткани. Адсорбция МСК на сетку перед имплантацией может снизить нежелательные реакции организма и привести к улучшению биомеханических свойств комплекса сетка–ткань. Сетки с МСК ( $10^5$  клеток/см<sup>2</sup>) эндометрия человека или без имплантировали подкожно крысам на 7, 30, 60 и 90 дней. Животные хорошо переносили имплантированные сетки, меченые клетки присутствовали на сетке до 14 дней после имплантации. Сетки с клетками были, как правило, менее жесткими через 7 и 90 дней имплантации, способствовали значительно большей неоваскуляризации через 7 дней ( $p < 0,05$ ) и привлекали меньше макрофагов и нейтрофилов через 90 дней ( $p < 0,05$ ). Исследования *in vitro* и *in vivo* показали, что локальная иммуномодуляция имплантированных сеток с МСК опосредуется поляризацией макрофагов в направлении прогнатовоспалительного фенотипа. МСК оказывают противовоспалительное действие и способствуют интеграции сеток с ростом новых тканей и минимальным фиброзом [34 – 36].

Покрытие МСК и фибробластами различных синтетических, абсорбируемых и биологических сеток анализировали качественно и количественно. Пять грыжевых сеток – легкий моноволоконный полипропилен (Soft Mesh), полиэстер (Parietex–TET), ПМК–композит (TIGR), тяжелый моноволоконный полипропилен (Marlex) и кожный коллаген свиньи (Strattice) – были покрыты тремя клеточными линиями: дермальные фибробласты человека, фибробласты почки крысы и МСК крысы. Дермальные фибробласты человека покрывали всю сетку за 3 нед, а фибробласты и МСК крысы – в течение 2 нед. МСК хорошо адгезировались ко всем материалам и создавали самую высокую плотность на Parietex–TET и TIGR. Предпочтение субстрата объясняет значительно более низкую плотность фибробластов на TIGR, чем на Parietex–TET. Фибробласты не смогли покрыть Marlex. Плотность клеток, генерированная Strattice, который имел наименьшую площадь поверхности, и Parietex, была сопоставимой [37].

Стандартное восстановление нативной ткани при хирургической реконструкции пролапса тазовых органов может привести к плохому долгосрочному исходу, а использование постоянных полипропиленовых сеток связано с частыми и серьезными побочными эффектами. Исследовали возможности дополнительного применения техники тканевой инженерии для тазовой реконструктивной хирургии с использованием синтетического биоразлагаемого материала: метоксиполиэтиленгликоль–ПМК–гликолевая кислота со стволовыми клетками мышечной ткани в форме фрагментов свежих мышечных волокон или без них. Для моделирования создавали частичный дефект брюшной стенки крысы. Обнаружили, что матрицы из метоксиполиэтиленгликоль–ПМК–гликолевой кислоты были полностью разрушены через 8 нед. Клетки использованных мышечных волокон были прослежены по флюоресценции RKN26 или окрашиванием на десмин, они послужили основой для образования новых поперечно–полосатых мышечных волокон [38].

В классической хирургии используют полипропиленовую сетку для устранения грыжи. Это часто приводит к не-

благоприятным последствиям, включая боль и ощущение инородного тела. Была исследована совместимость МСК жировой ткани беспородных крыс линии Спрег–Доули (англ. Sprague Dawley) с сеткой из полипропилена при лечении паховой грыжи. Сетку с адсорбированными МСК имплантировали под мышечный слой брюшной полости крыс. МСК продемонстрировали адгезию с удовлетворительными пролиферативными способностями. Применение модифицированного материала уменьшало количество макрофагов и лимфоцитов ( $p < 0,01$ ), но не всех лейкоцитов или нейтрофилов ( $p > 0,05$ ) [39].

Сетки, которые используют в урогинекологии вызывают неблагоприятную реакцию инородного тела, приводящую в долгосрочной перспективе к отторжению трансплантата. Для разрешения этой проблемы мы применили стратегию тканевой инженерии с использованием эндометриальных SUSD2+ МСК с высокими регенеративными свойствами. Сетка из биоразлагаемых нановолокон на основе соединения ПМК–поли–ε–капролактона с желатином обеспечивает уникальную топографию, которая позволяет захватывать МСК на срок до 6 нед, что способствует существенной клеточной инфильтрации противовоспалительными макрофагами реципиента. МСК в значительной мере влияют на результаты имплантации, демонстрируя неожиданно высокий уровень тканевой интеграции указанных изделий в течение 6 нед *in vivo* [40].

В качестве сеток часто используют биоматериалы, состоящие из внеклеточного матрикса. Культивировали аутологичные МСК жировой ткани крыс линии Вистар на поперечно связанных или несшитых матрицах из бесклеточного матрикса дермы свиньи. У 24 крыс был создан стандартизированный фасциальный дефект размерами 4 × 2 см, который восстанавливали с применением указанных трансплантатов, обогащенных МСК. В качестве контроля использовали материалы без МСК. Крыс выводили из эксперимента через 3 мес. Оба материала вызывали клеточную инфильтрацию и неоваскуляризацию. Сравнение обеих испытуемых групп с контрольными группами не показало значительных различий в толщине капсулы, реакции инородного тела, клеточной инфильтрации или васкуляризации. Прочность включения образцов поперечно сшитого внеклеточного матрикса с МСК превышала прочность образцов без клеток, но этот результат был статистически незначимым. У несшитого матрикса сила связи с тканями была значительно выше при использовании МСК, чем без клеток. Размещение МСК на биологических сетках не способствует существенному повышению их васкуляризации. В материалах с поперечными связями МСК не обеспечивают повышенную прочность при имплантации в отличие от несшитых материалов. В связи с тем что выделение и адсорбция МСК на искусственных материалах является очень сложной процедурой, нет достаточных преимуществ для ее использования в клинических условиях [41].

Хирургические сетки изготавливают из различных материалов как недеградируемых, так и подвергающихся полной деструкции, а также используют их комбинирование. МСК, адсорбированные на всех типах сеток, по сообщениям большинства исследователей, улучшают биосовместимость имплантированных материалов, уменьшают активность воспалительного процесса в окружающих тканях и способствуют их неоваскуляризации, ускоряют заживление

послеоперационных повреждений с минимальным фиброзом. Необходимо обратить внимание, что O. Mestak и соавторы [41] не обнаружили неоваскуляризации тканей при размещении МСК на биологических сетках и более прочной связи имплантированных изделий с тканями, что противоречит всем другим сообщениям.

*Результаты применения ПМК с адсорбированными МСК.* Исследовали тканевые двухслойные диски из ПМК с аутологичными МСК жировой ткани в качестве потенциальной замены диска височно–нижнечелюстного сустава. При гистологическом исследовании через 6 и 12 мес после имплантации указанных дисков в сустав кроликам не было обнаружено никаких признаков инфекции, воспаления или реакций на инородное тело, тогда как во всех оперированных без МСК суставах наблюдали хронический артроз и значительную гипертрофию мышечков [42].

Привлечение МСК к месту имплантации биоматериала на основе ПМК–гликолевой кислоты значительно изменяло острые реакции тучных клеток, уменьшая их общее число и количество дегранулированных форм вблизи имплантатов. Это приводило к последующему снижению активности воспалительных клеточных реакций, а также к увеличению ангиогенеза и уменьшению степени фиброза в ответ на имплантаты. Кроме того, усиление рекрутирования аутологичных МСК может ускорить репарацию тканей на границе имплантата [7].

Матрицы из очищенного биоразлагаемого шелка, коллагена или ПМК культивировали с МСК крысы и имплантировали крысам внутримышечно. Гистологическая и иммуногистохимическая оценка эксплантатов шелка через 6 нед показала наличие ориентированных по окружности фибробластов, небольшое число кровеносных сосудов и макрофагов на границе раздела имплантат–хозяин, а также отсутствие гигантских клеток инородных тел. Воспалительная реакция была более заметна вокруг коллагеновых пленок и еще больше вокруг пленок PLA по сравнению с шелком [43].

Полимер, изготовленный из ПМК и поли–ε–капролактона, был синтезирован с помощью нового не содержащего олова каталитического процесса. Материал, протестированный в перфузионной культуре с использованием биореактора, имплантировали овцам для латеральной аугментации нижней челюсти. В перфузионной культуре деградацию не наблюдали в течение продолжительного периода (до 7 нед), в то время как МСК костного мозга легко прикреплялись к материалу, устойчиво пролиферировали и осаждали внеклеточный кальций. Гистологическую и объемную оценку изделия, внедренного с МСК, проводили через 3 и 6 мес после имплантации. Спустя 6 мес после внедрения материал практически не изменял свою форму, также не было отмечено и реакций инородного тела [1].

Методами световой микроскопии с применением люминесценции изучали изменения подкожно–жировой клетчатки крыс после имплантации ПМК с пассивно адсорбированными на поверхности МСК с трансфицированным геном GFP и дополнительно окрашенными Vybrant® CM–DiI клеточными мембранами. Спустя 1 нед рядом с имплантированными ПМК с адсорбированными МСК методами флюоресцентной микроскопии были найдены фибробластоподобные клетки с ярким и равномерным свечением цитоплазмы при использовании родаминового фильтра. На 2–й неделе возле ПМК присутствовали макрофаги разных

размеров и форм с интенсивной флюоресценцией в условиях применения родаминового фильтра множества включений. Далее яркость люминесценции и количество светящихся объектов прогрессивно снижались вплоть до почти полного исчезновения к 4-й неделе. В результате адсорбции на ПМК МСК происходит уменьшение объема склерозированной клетчатки с увеличением в ней числа сосудов на 1 – 2-й неделях после имплантации. В этой клетчатке в течение 1 нед ниже численная плотность всех лейкоцитов и лимфоцитов. При имплантации ПМК с адсорбированными МСК уже к 2-й неделе эти клеточные элементы из тканей фагоцитируются макрофагами, МСК и их детрит полностью элиминируются из места введения к 4-й неделе [44].

Таким образом, МСК легко прикрепляются и устойчиво пролиферируют на материалах на основе ПМК. Со временем МСК из места введения элиминируются макрофагами. Использование ПМК с адсорбированными на поверхности МСК улучшает результаты имплантации за счет уменьшения интенсивности воспалительного процесса, усиления ангиогенеза и снижения степени фиброза, подавления реакций инородного тела в тканях в ответ на имплантацию.

*Особенности инкапсуляции силикона в условиях применения клеточных технологий.* Методом световой микроскопии изучали в разные сроки состояние тканей вокруг имплантированного фрагмента оболочки силиконового маммоимплантата с адсорбированными МСК. После внедрения силикона с адсорбированными МСК вокруг инкапсулированного полимера образовывался меньший объем рыхлой волокнистой соединительной ткани. В этой соединительной ткани через 2 нед после использования МСК ниже абсолютное число всех клеточных элементов, а процент и численная плотность нейтрофилов – в течение 1 – 2 нед [8].

Грудные имплантаты широко используют в настоящее время. Как инородное тело они являются причиной воспаления с последующим образованием фиброзной капсулы. МСК могут быть привлечены к участкам воспаления и играть определенную роль в развитии рака, тем более, что при опухоли воспаленная строма необходима для сохранения злокачественных клеток. МСК были выделены из фиброзных капсул женщин после второй операции маммопластики через 1 год (с воспалением) или через 20 лет (без воспаления) с момента первичной операции. После совместного культивирования с МСК из капсулы с воспалением клетки линии рака молочной железы MCF7 увеличили пролиферацию в зависимости от дозы и времени. Полимеразная цепная реакция выявила нарушение регуляции генов, участвующих в онкогенезе, пролиферации и эпителиально-мезенхимальном переходе. Однако последующая оценка методом вестерн-блоттинга не подтвердила эти результаты, показав лишь умеренное снижение экспрессии E-кадгерина после совместного культивирования с МСК (из капсул с воспалением и без него). Данные показывают, что воспаление, вызванное грудными имплантатами, частично влияет на пролиферацию MCF7, но не оказывает эффекта на ключевые механизмы развития опухоли [45].

Результатов имплантации силикона с использованием клеточных технологий практически нет, хотя экспериментальные данные показывают возможность подавления воспалительного процесса, активации периимплантатного ангиогенеза и создания условий для успешной интеграции этого полимера в тканях. Вместе с этим необходимо

учитывать существование вероятности развития злокачественной опухоли в ответ на длительное присутствие инородного тела в организме, но, поскольку введенные извне МСК быстро элиминируются, их участие в опухолевом процессе маловероятно.

### Выводы

В настоящее время в тканевой инженерии все еще нет полной ясности в понимании механизмов взаимодействия между МСК, факторами роста и имплантированными материалами. МСК легко адгезируются и устойчиво пролиферируют на большинстве материалов искусственного и природного происхождения, применяемых для имплантации в организм человека и животных. При этом улучшается биосовместимость имплантированных материалов, уменьшается активность воспалительного процесса в окружающих тканях, усиливается их неоваскуляризация, ускоряется заживление послеоперационных повреждений с минимальным фиброзом и супрессируются реакции инородного тела в тканях в ответ на имплантацию. Необходимо обратить внимание на определенную противоречивость литературных данных, отдельные исследователи не нашли ангиогенеза после имплантации МСК на биологических материалах, также не было обнаружено более прочной связи имплантированных изделий с тканями. Практически все научные исследования описывают как матрицы для МСК влияют на ткани и рану, а также на эти МСК и их функции. Вместе с этим практически нет данных, какой эффект МСК оказывают на саму матрицу и на процессы ее интеграции и/или деградации. Однако без полного учета всех результатов невозможно оценивать сроки полного лизиса имплантированных материалов, разрабатывать эффективные методы профилактики и лечения развивающихся осложнений. Решение этой проблемы не только улучшит результаты имплантации, но и даст возможность управлять процессами интеграции, деградации, отторжения и элиминации различных по природе и происхождению инородных тел.

Стратегии регенерации на основе МСК обладают огромными перспективами, но этот потенциал, прежде широко внедрения, должен быть полностью оценен в соответствии со строгими стандартами научных и клинических исследований.

### Подтверждение

**Участие авторов.** Майбородин И. В. – концепция и дизайн исследования, анализ полученных данных, написание текста, редактирование; Хоменок С. В. – сбор и обработка материала; Михеева Т. В. – сбор и обработка материала, редактирование; Ярин Г. Ю. – сбор и обработка материала, редактирование; Майбородина В. И. – сбор и обработка материала, редактирование; Агзаев М. К. – сбор и обработка материала; Вильгельми И. А. – сбор и обработка материала; Шевела А. И. – концепция и дизайн исследования, редактирование.

**Информация об источнике поддержки в виде грантов, оборудования, лекарственных препаратов.** Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2017 – 2020 гг. (VI.62.2.1, 0309–2016–0006) “Разработка технологий получения материалов для регенеративной медицины и развитие методов восстановления

ния репродуктивного здоровья". Финансовой поддержки со стороны компаний–производителей оборудования, реактивов и лекарственных препаратов авторы не получали.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Одобрение комитета по этике.** Исследование одобрено локальным этическим комитетом Центра новых медицинских технологий Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН.

## References

- Schimke MM, Paul S, Tillmann K, Lepperding G, Stigler RG. Hard tissue augmentation of aged bone by means of a tin-free PLLA-PCL co-polymer exhibiting in vivo energy and long-term structural stability. *Gerontology*. 2019;65(2):174–85. doi: 10.1159/000494798.
- Trindade R, Albrektsson T, Tengvall P, Wennerberg A. Foreign body reaction to biomaterials: on mechanisms for buildup and breakdown of osseointegration. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2016;18(1):192–203. doi: 10.1111/cid.12274.
- Anderson JM, Rodriguez A, Chang DT. Foreign body reaction to biomaterials. *Semin Immunol*. 2008;20(2):86–100. doi: 10.1016/j.smim.2007.11.004.
- Yost MJ, Morales MO, Rodriguez-Rivera V, Yost EM, Terracio L, Fann SA. A model system for primary abdominal closures. *Methods Mol Biol*. 2013;1037:165–73. doi: 10.1007/978-1-62703-505-7\_9.
- Richter A, Kruse C, Moser A, Hofmann UG, Danner S. Cellular modulation of polymeric device surfaces: promise of adult stem cells for neuroprosthetics. *Front Neurosci*. 2011;5:114. doi: 10.3389/fnins.2011.00114.
- Maiborodin IV, Kolesnikov IS, Sheplev BV, Ragimova TM, Kovyntsev AN, Kovyntsev DN, et al. Adjusting gingival tissues morphology after dental implantation with fibrin use. *Stomatologiya*. 2009;88(1):9–13. [In Russian].
- Thevenot PT, Nair AM, Shen J, Lotfi P, Ko CY, Tang L. The effect of incorporation of SDF-1alpha into PLGA scaffolds on stem cell recruitment and the inflammatory response. *Biomaterials*. 2010;31(14):3997–4008. doi: 10.1016/j.biomaterials.2010.01.144.
- Maiborodin IV, Mikheeva TV, Kuzkin SA, Kadyrova AI, Maiborodina VI, Shevela AI. Decrease in activity of the inflammatory process after implantation of silicone with adsorbed multipotent stromal cells. *Translyatsionnaya meditsina. Translational Medicine*. 2018;5(6):41–50. doi: 10.18705/2311-4495-2018-5-6-41-50. [In Russian].
- Han D, Ma Z, Zhang P, Yang JF, Zhang Y, Yang D, et al. Muscle derived stem cell contains the potential to enhance long term retention as well as an aesthetic outcome of autologous fat grafting. *Med Hypotheses*. 2011;76(6):805–8. doi: 10.1016/j.mehy.2011.02.022.
- Xu K, Cantu DA, Fu Y, Kim J, Zheng X, Hematti P, et al. Thiol-ene Michael-type formation of gelatin/poly(ethylene glycol) biomaterials for three-dimensional mesenchymal stromal/stem cell administration to cutaneous wounds. *Acta Biomater*. 2013;9(11):8802–14. doi: 10.1016/j.actbio.2013.06.021.
- Campbell JH, Efendy JL, Han C, Girjes AA, Campbell GR. Haemopoietic origin of myofibroblasts formed in the peritoneal cavity in response to a foreign body. *J Vasc Res*. 2000;37(5):364–71. doi: 10.1159/000025752.
- Vranken I, De Visscher G, Lebacqz A, Verbeken E, Flameng W. The recruitment of primitive Lin(–) Sca-1(+), CD34(+), c-kit(+) and CD271(+) cells during the early intraperitoneal foreign body reaction. *Biomaterials*. 2008;29(7):797–808. doi: 10.1016/j.biomaterials.2007.10.041.
- Voskresenskii DK, Mushegova NI, Michurina TV, Khrushchov NG. Precursor cells of newly formed connective tissue in inflammatory foci in various organs in mice. *Ontogenez*. 1988;19(3):247–52. [In Russian].
- Wang D, Wang A, Wu F, Qiu X, Li Y, Chu J, et al. Sox10+ adult stem cells contribute to biomaterial encapsulation and microvascularization. *Sci Rep*. 2017;7:40295. doi: 10.1038/srep40295.
- Jain HV, Moldovan NI, Byrne HM. Modeling stem/progenitor cell-induced neovascularization and oxygenation around solid implants. *Tissue Eng Part C Methods*. 2012;18(7):487–95. doi: 10.1089/ten.TEC.2011.0452.
- Avci-Adali M, Stoll H, Wilhelm N, Perle N, Schlensak C, Wendel HP. In vivo tissue engineering: mimicry of homing factors for self-endothelialization of blood-contacting materials. *Pathobiology*. 2013;80(4):176–81. doi: 10.1159/000347222.
- Gao JL, Wynn TA, Chang Y, Lee EJ, Broxmeyer HE, Cooper S, et al. Impaired host defense, hematopoiesis, granulomatous inflammation and type 1-type 2 cytokine balance in mice lacking CC chemokine receptor 1. *J Exp Med*. 1997;185(11):1959–68. doi: 10.1084/jem.185.11.1959.
- Vallés G, Bensiamar F, Crespo L, Arruebo M, Vilaboa N, Saldaña L. Topographical cues regulate the crosstalk between MSCs and macrophages. *Biomaterials*. 2015;37:124–33. doi: 10.1016/j.biomaterials.2014.10.028.
- Wang K, Yu LY, Jiang LY, Wang HB, Wang CY, Luo Y. The paracrine effects of adipose-derived stem cells on neovascularization and biocompatibility of a macroencapsulation device. *Acta Biomater*. 2015;15:65–76. doi: 10.1016/j.actbio.2014.12.025.
- Shevela AA, Toder MS, Matveeva VA, Artemeva LV, Matveev AL, Meisner SN, et al. Chemically pure silicon and titanium coating is not toxic for mesenchymal stromal cells and improves cytological compatibility of electropolished titanium alloy. *Issues of reconstructive and plastic surgery*. 2017;3(62):45–50. doi: 10.17223/1814147/62/06. [In Russian].
- Patel J, Gudehithlu KP, Dunea G, Arruda JA, Singh AK. Foreign body-induced granulation tissue is a source of adult stem cells. *Transl Res*. 2010;155(4):191–9. doi: 10.1016/j.trsl.2009.08.010.
- Morozova OV, Karamysheva AF, Moizhess TG. Some molecular and genetic properties of progenitor cells in sarcomas induced with foreign body. *Ontogenez*. 2015 Mar–Apr;46(2):94–101. doi: 10.7868/S0475145015020056. [In Russian].
- Moizhess TG, Vasilev IuM. Cells of endothelial lineage (or endothelial-like cells) as possible progenitor cells of sarcomas induced by implanted foreign body. *Tsitologiya*. 2013;55(8):548–52. [In Russian].
- Rodrigues M, Yates CC, Nuschke A, Griffith L, Wells A. The matrikinase tenascin-C protects multipotential stromal cells/mesenchymal stem cells from death cytokines such as FasL. *Tissue Eng Part A*. 2013;19(17–18):1972–83. doi: 10.1089/ten.TEA.2012.0568.
- Rubin JP, Bennett JM, Doctor JS, Tebbets BM, Marra KG. Collagenous microbeads as a scaffold for tissue engineering with adipose-derived stem cells. *Plast Reconstr Surg*. 2007;120(2):414–24. doi: 10.1097/01.prs.0000267699.99369.a8.
- Tan RP, Lee BSL, Chan AHP, Yuen SCG, Hung J, Wise SG, et al. Non-invasive tracking of injected bone marrow mononuclear cells to injury and implanted biomaterials. *Acta Biomater*. 2017;53:378–388. doi: 10.1016/j.actbio.2017.02.002.
- Caires HR, Barros da Silva P, Barbosa MA, Almeida CR. A co-culture system with three different primary human cell populations reveals that biomaterials and MSC modulate macrophage-driven fibroblast recruitment. *J Tissue Eng Regen Med*. 2018;12(3):e1433–e1440. doi: 10.1002/term.2560.
- Blocki A, Beyer S, Dewavrin JY, Goralczyk A, Wang Y, Peh P, et al. Microcapsules engineered to support mesenchymal stem cell (MSC) survival and proliferation enable long-term retention of MSCs in infarcted myocardium. *Biomaterials*. 2015;53:12–24. doi: 10.1016/j.biomaterials.2015.02.075.
- Alhag M, Farrell E, Toner M, Claffey N, Lee TC, O'Brien F. Evaluation of early healing events around mesenchymal stem cell-seeded collagen-glycosaminoglycan scaffold. An experimental study in Wistar rats. *Oral Maxillofac Surg*. 2011;15(1):31–9. doi: 10.1007/s10006-010-0241-x.
- Xu C, Su P, Wang Y, Chen X, Meng Y, Liu C, et al. A novel biomimetic composite scaffold hybridized with mesenchymal stem cells in repair of rat bone defects models. *J Biomed Mater Res A*. 2010;95(2):495–503. doi: 10.1002/jbm.a.32877.
- Domingues JA, Cherutti G, Motta AC, Hausen MA, Oliveira RT, Silva-Zacarin EC, et al. Bilaminar device of poly(lactic-co-glycolic acid)/collagen cultured with adipose-derived stem cells for dermal regeneration. *Artif Organs*. 2016;40(10):938–49. doi: 10.1111/aor.12671.
- Chen B, Dave B. Challenges and future prospects for tissue engineering in female pelvic medicine and reconstructive surgery. *Curr Urol Rep*. 2014;15(8):425. doi: 10.1007/s11934-014-0425-2.
- Marinero F, Sánchez-Margallo FM, Álvarez V, López E, Tarazona R, Brun MV, et al. Meshes in a mess: Mesenchymal stem cell-based therapies for soft tissue reinforcement. *Acta Biomater*. 2019;85:60–74. doi: 10.1016/j.actbio.2018.11.042.
- Ulrich D, Edwards SL, Su K, Tan KS, White JF, Ramshaw JA, et al. Human endometrial mesenchymal stem cells modulate the tissue response and mechanical behavior of polyamide mesh implants for pelvic organ prolapse repair. *Tissue Eng Part A*. 2014;20(3–4):785–98. doi: 10.1089/ten.TEA.2013.0170.
- Edwards SL, Ulrich D, White JF, Su K, Rosamilia A, Ramshaw JA, et al. Temporal changes in the biomechanical properties of endometrial mesenchymal stem cell seeded scaffolds in a rat model. *Acta Biomater*. 2015;13:286–94. doi: 10.1016/j.actbio.2014.10.043.

36. Blázquez R, Sánchez–Margallo FM, Álvarez V, Usón A, Casado JG. Surgical meshes coated with mesenchymal stem cells provide an anti-inflammatory environment by a M2 macrophage polarization. *Acta Biomater.* 2016;31:221–30. doi: 10.1016/j.actbio.2015.11.057.
37. Gao Y, Liu LJ, Blatnik JA, Krpata DM, Anderson JM, Criss CN, et al. Methodology of fibroblast and mesenchymal stem cell coating of surgical meshes: a pilot analysis. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2014;102(4):797–805. doi: 10.1002/jbm.b.33061.
38. Jangö H. Tissue – engineering as an adjunct to pelvic reconstructive surgery. *Dan Med J.* 2017;64(8). pii: B5378. PMID: 28869032.
39. Zhao J, Xu J. Experimental study on application of polypropylene hernia of fat stem cells in rats. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2018;22(18):6156–61. doi: 10.26355/eurrev\_201809\_15957.
40. Mukherjee S, Darzi S, Rosamilia A, Kadam V, Truong Y, Werkmeister J, et al. Blended nanostructured degradable mesh with endometrial mesenchymal stem cells promotes tissue integration and anti-inflammatory response in vivo for pelvic floor application. *Biomacromolecules.* 2019;20(1):454–68. doi: 10.1021/acs.biomac.8b01661.
41. Mestak O, Matouskova E, Spurkova Z, Benkova K, Vesely P, Mestak J, et al. Mesenchymal stem cells seeded on cross-linked and noncross-linked acellular porcine dermal scaffolds for long-term full-thickness hernia repair in a small animal model. *Artif Organs.* 2014;38(7):572–9. doi: 10.1111/aor.12224.
42. Ahtiainen K, Mauno J, Ellä V, Hagström J, Lindqvist C, Miettinen S, et al. Autologous adipose stem cells and polylactide discs in the replacement of the rabbit temporomandibular joint disc. *J R Soc Interface.* 2013;10(85):20130287. doi: 10.1098/rsif.2013.0287.
43. Meinel L, Hofmann S, Karageorgiou V, Kirker–Head C, McCool J, Gronowicz G, et al. The inflammatory responses to silk films in vitro and in vivo. *Biomaterials.* 2005;26(2):147–55. doi: 10.1016/j.biomaterials.2004.02.047.
44. Maiborodin IV, Mikheyeva TV, Maiborodina VI, Shevela AI. Impact of multipotent stromal cells, adsorped on polymer of lactic acid, on inflammatory reaction after its experimental implantation. *Klinichna khirurgiia.* 2019;86(4):47–8. doi: 10.26779/2522–1396.2019.04.47. [In Russian].
45. Orciani M, Lazzarini R, Scartozzi M, Bolletta E, Mattioli–Belmonte M, Scalise A, et al. The response of breast cancer cells to mesenchymal stem cells: a possible role of inflammation by breast implants. *Plast Reconstr Surg.* 2013;132(6):899e–910e. doi: 10.1097/01.prs.0000434401.98939.60.

Надійшла 29.06.2019