

Влияние комбинации ростовых факторов TGF β и IGF на хондрогенный потенциал мезенхимальных стволовых клеток костного мозга

УДК:616.419-018.3/4:591.134.1

Анна Жерносеченко,

научный сотрудник лаборатории клеточных биотехнологий и цитотерапии Республиканского научно-практического центра детской онкологии, гематологии и иммунологии; sapphire.anna@gmail.com

Янина Исайкина,

завлабораторией клеточных биотехнологий и цитотерапии Республиканского научно-практического центра детской онкологии, гематологии и иммунологии, кандидат биологических наук; yaninai@mail.ru

Татьяна Филипович,

младший научный сотрудник Республиканского научно-практического центра детской онкологии, гематологии и иммунологии; tatianafilipovich95@gmail.com

Аннотация. Исследовано влияние комбинации ростовых факторов TGF β (TGF β 1 и TGF β 3) и IGF, а также срока дифференцировки на индукцию хондрогенеза МСК *in vitro*. Доказано, что МСК, находящиеся в 2D и 3D-системах, при воздействии TGF β /IGF через 7 суток имели признаки ранних хондробластоподобных клеток. Применение TGF β 3/IGF для хондродифференцировки МСК предпочтительнее, так как приводит к более выраженному ингибированию гипертрофии клеток. Отсутствие достоверных различий в экспрессии генов (за исключением Sox9) на 7-е и 21-е сутки хондродифференцировки МСК позволяет сократить продолжительность процесса до 7 суток.

Ключевые слова: мезенхимальные стволовые клетки, хондрогенная дифференцировка, 2D, 3D-системы культур клеток.

Для цитирования: Жерносеченко А., Исайкина Я., Филипович Т. Влияние комбинации ростовых факторов TGF β и IGF на хондрогенный потенциал мезенхимальных стволовых клеток костного мозга // Наука и инновации. 2021. №2. С. 78–83. <https://doi.org/10.29235/1818-9857-2021-2-78-83>

Применение в тканевой инженерии мезенхимальных стволовых клеток (МСК) перспективно, так как их можно экспансировать без потери хондрогенного потенциала. К сожалению, клетки, полученные в результате дифференцировки МСК в хондрогенном направлении *in vitro*, имеют нестабильный фенотип, а экспрессия маркеров гипертрофии только увеличивает проблему их использования, так как гипертрофированные хондроциты в дальнейшем подвергаются апоптозу и кальцификации, тогда как здоровый суставной хрящ – стабильная ткань, обладающая способностью сопротивляться гипертрофии через неизвестный на сегодняшний день механизм [1–3].

Хондрогенная дифференцировка связана с многочисленными внутриклеточными сигналами. Sox9 и Runx2 – важнейшие маркеры хондрогенного развития, но функции их различаются. Оба фактора экспрессируются в течение всего хондрогенеза, начиная с конденсации и заканчивая терминальной хондрогенной гипертрофией. Но, если Sox9 связан с хондрогенной дифференцировкой и усиливает активность экспрессии гена коллагена II типа (Coll2) и других маркеров начала дифференцировки, то Runx2 вовлечен в гипертрофическое созревание клеток. Кроме того, Sox9 ингибирует экспрессию Runx2 [1, 4–6].

Семейство TGF β (трансформирующий фактор роста β), три изоформы которого (TGF β 1, TGF β 2 и TGF β 3) хорошо изучены, не только обладает антипролиферативным воздействием на клетки, но и выступает одним из основных

регуляторных факторов индукции хондрогенеза. Он является основным инициатором конденсации клеток, а также приводит к торможению процесса гипертрофии, поэтому его наличие в среде культивирования при хондродифференцировке МСК можно считать приоритетным, хотя экспрессия многих маркеров гипертрофии, таких как коллаген X типа (CollX), щелочная фосфатаза, Runx2, сохраняется даже в присутствии TGFβ [1, 7, 8]. Более того, все еще остается на высоком уровне синтез коллагена I типа, что свидетельствует о невозможности дифференцировки МСК в полноценные хондроциты [9, 10].

Для гиалинового хряща два наиболее важных компонента внеклеточного матрикса – коллаген II типа, составляющий 80% внеклеточного матрикса хрящевой структуры, и агрекан, образующий 80–90% протеогликанов. Исследования показали, что TGFβ3 инициирует более раннюю дифференцировку, чем TGFβ1 [11, 12].

Большое значение в хондрогенной дифференцировке МСК имеет инсулиноподобный ростовой фактор (IGF), который модулирует хондрогенез через стимуляцию пролиферации, стабилизацию клеток, ингибирование апоптоза и индукцию экспрессии хондрогенных маркеров. IGF в комбинации с TGFβ1 и BMP7 увеличивает эффективность хондрогенеза, что проявляется в накоплении внеклеточного матрикса [9].

Как показали исследования под руководством Л. Лонгобарди, IGF обладает равной с TGFβ1 активностью в индукции хондрогенеза, но не зависит от него, поэтому действие этих двух факторов суммируется. Кроме того, выявлен времязависимый эффект IGF: первоначально он индуцирует пролиферацию, а позже способствует хондрогенной дифференцировке [13, 14].

Согласно современным представлениям, IGF выступает посредником роста и развития хрящевой ткани, внося изменения в баланс пролиферации и гипертрофии хондроцитов. IGF-зависимый сигнальный путь стимулирует пролиферацию хондроцитов через IGF1/IGF1R-опосредованный PI3K/Akt/GSK3β сигнальный путь, в тоже время активирует Wnt/β-catenin и ИНН, приводя к гипертрофии [1, 15].

На сегодняшний день для дифференцировки МСК используются в основном комбинации нескольких ростовых факторов. Сочетание IGF1/BMP2 приводит в действие дополнительные анаболические эффекты в хондроцитах и стимулирует синтез внеклеточного матрикса. Изучение

действия комбинации TGFβ3 и IGF на МСК, полученные из межпозвоночного диска, показало, что она приводит к значительной экспрессии Coll2 и Sox9, низкой экспрессии COMP, к увеличению синтеза протеогликанов, в частности глюкозаминогликанов (GAG), по сравнению с отдельно взятым действием TGFβ3 и IGF1 и, кроме того, дает существенный синергичный эффект на снижение апоптоза и некроза МСК [16, 17].

Изучение хондрогенного эффекта TGFβ3, костного морфогенетического белка (BMP2), IGF и ростового фактора фибробластов (FGF2) в различных комбинациях и дозах (81 комбинация) коллективом ученых под руководством А. Хуана показало изменчивое действие на синтез GAG. TGFβ3 имел прохондрогенный эффект, в то время как FGF2 – пролиферативный. IGF1 проявил себя как нестабильный фактор, хотя комбинация IGF1 с FGF2 обнаружила возрастание депонирования GAG независимо от дозы [18].

Целью нашего исследования было изучение влияния комбинации ростовых факторов TGFβ (TGFβ1 и TGFβ3) и IGF, а также срока дифференцировки на хондрогенез МСК *in vitro*.

Материалы и методы

Для получения МСК моноклеарные клетки выделяли из проб костного мозга на Гистопакке плотностью 1,077 г/мл (Sigma, США), отмывали в 0,9% NaCl, ресуспендировали в IMDM с 10%-ной эмбриональной телячьей сывороткой (ЭТС) (Sigma, США) и переносили в концентрации 2–3x10⁶/мл во флакон 25 см² (Sarstedt, Германия). Клетки инкубировали при +37 °C и 5% CO₂, со сменой среды через каждые 3 дня. При получении 80–90% конфлюэнтного слоя МСК дезадгезировали 0,25%-ным трипсином-ЭДТА (Sigma, США), отмывали в 0,9% NaCl и переносили во флаконы 75 см² в количестве 0,5x10⁶ для экспансии. Для образования 3D-системы (пеллета) использовали МСК 2-го или 3-го пассажей. МСК переносили в дифференцировочную среду: DMEM с 10 нг/мл TGFβ3 или TGFβ1, 100 нг/мл IGF1, 10–7 М дексаметазона, 1% антибиотика центрифугировали при 250 g в течение 5 мин. и культивировали на протяжении 21 дня со сменой среды каждые 3–4 дня. Для получения монослоя МСК, индуцированных к хондрогенезу, клетки 2-го или 3-го пассажей культивировали в дифференцировочной среде в течение 7 суток.

Гистологическое окрашивание срезов клеточных пеллетов и монослоя клеток после хондродифференцировки красителями сафранином О, толуидиновым синим, альтиановым синим и гематоксилин-эозином проводили для оценки синтеза клетками гликозаминогликонов внеклеточного матрикса.

Для конфокальной микроскопии МСК, срезов клеточного пеллета и монослоя клеток после хондродифференцировки выполняли иммунофлуоресцентное окрашивание образцов с первоначальной их пермеабиллизацией 0,1% Triton X-100 в течение 30 мин., инкубацией с первичными антителами анти-Aggregan G1-IGD-G2 (1:100) и анти-COL2A1 (1:50) в течение 2 часов при +4 °С, а затем со вторичными антителами Nothern Lihgt 637 (1:100) и AlexaFluor 488 (1:400) в течение часа. После отмывки ядра клеток окрашивали пропидиум йодидом и анализировали образцы на конфокальном сканирующем лазерном микроскопе Leica для оценки формы и размера ядер клеток, а также присутствия коллагена II типа и агрекана внутри клеток и во внеклеточном матриксе.

Методом количественной ПЦР в реальном времени (RT-qPCR) определяли экспрессию генов, отвечающих за синтез коллагена I, II, X, XI типов, Sox9, хрящевого олигомерного белка матрикса (COMP) и агрекана. Методом обратной транскрипции проводили синтез комплементарных цепочек ДНК, используя в качестве матрицы выделенную РНК, для чего 1 мкг РНК в концентрации 0,1 мкг/1 мкл воды денатурировали в течение 10 мин. при 70 °С. Затем аликвоту РНК, охлажденную на льду, вносили в смесь для обрат-

ной транскрипции (4 мкл 5-кратного буфера для обратной транскриптазы (Promega, США), 2 мкл 10 мМ смеси дезнуклеотидтрифосфатов, 1 мкл 50 мМ случайных праймеров (рэндом гексамеров) (Invitrogen, США), 0,5 мкл ингибитора рибонуклеаз в концентрации 40 ед/мкл, 1 мкл 200 ед/мкл обратной транскриптазы MMLV (Promega, США) и 1,5 мкл воды и инкубировали по программе: 200–10 минут, 420–45 минут, 990–3 минуты. 20 °С – 10 мин., 42 °С – 45 мин., 99 °С – 3 мин. Разводили кДНК водой до конечного объема 50 мкл. В работе применяли праймеры к исследуемым генам коллагенов I (Coll1), II (Coll2), X (Coll10), XI (Coll11) типов, Sox9, COMP и агрекан (Agg). В качестве контрольного гена использовали ABL и рассчитывали значение экспрессии как отношение к нему. Флуоресцентный краситель – SYBR Green. Приготовление реакционной смеси осуществляли с помощью набора QuantiTect SYBR Green PCR Kits (QIAGEN). ПЦР проводили как однокомпонентную реакцию (в каждой пробирке праймеры к одной мишени) со следующими условиями: 50 °С – 2 мин., 95 °С – 15 мин., 94 °С – 15 сек., 60 °С – 30 сек., 72 °С – 30 сек. Анализ специфичности амплификации проверяли по кривым плавления.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программ Statistica 6 (StatSoft, США) и включала методы описательной статистики с определением медианы, 25 и 75 перцентилей и методы анализа для непараметрического распределения: достоверность различий между независимыми выборками оценивали с помощью U-критерия Манна – Уитни, влияние фактора в выборке – парного теста Wilcoxon.

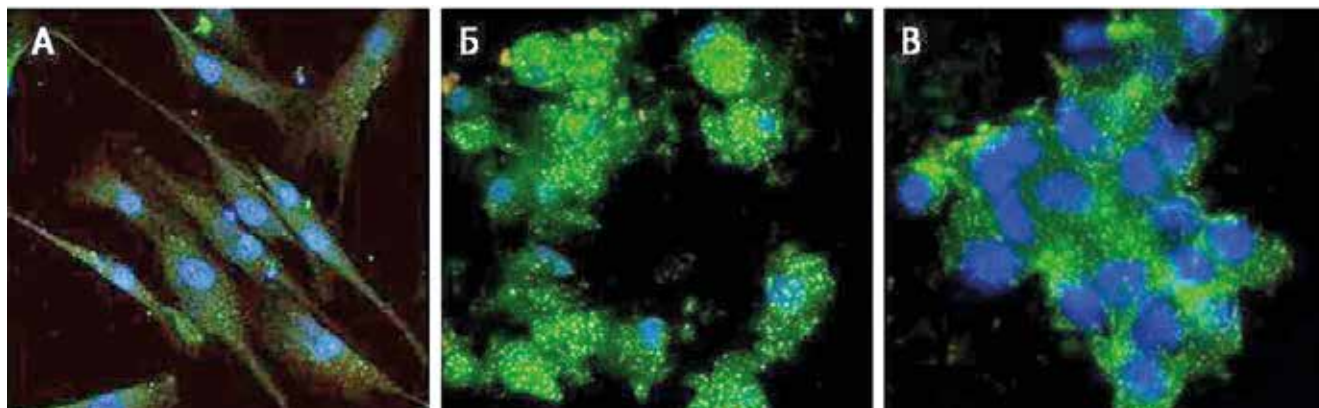


Рис. 1. Исследование коллагена II типа и агрекана методом конфокальной микроскопии при хондродифференцировке МСК в 3D-системе: А – МСК до дифференцировки; клетки после направленной хондрогенной дифференцировки: Б – на 7-й день, В – на 21-й день. Обозначения псевдоцветов: зеленый – коллаген II типа, красный – агрекан, синий – ядра клеток

Результаты исследования: Хондрогенная дифференцировка МСК в 3D-системе

Проведен сравнительный анализ влияния комбинации ростовых факторов TGFβ/IGF, включающий различные изоформы TGFβ1 или TGFβ3, на хондродифференцировку МСК. Исследование образцов методом конфокальной микроскопии на 7-е сутки индукции показало синтез коллагена II типа и агрекана внутри клеток, в то время как на 21-е сутки – внеклеточную локализацию данных компонентов матрикса (рис. 1).

Синтез коллагена II типа и агрекана был выявлен как при применении TGFβ1/IGF, так и TGFβ3/IGF (рис. 2 А–В). Результаты гистологической окраски композитов МСК, дифференцированных в хондрогенном направлении в течение 21 дня с ростовыми факторами, подтверждают синтез протеогликанов при окраске сафранином О (рис. 2 Г–Е), кислых гликозаминогликанов, окрашенных толуидиновым синим (рис. 2 Ж–И) и слабокислых сульфотированных гликозаминогликанов при окраске альциановым синим (рис. 2 К–М), то есть компонентов внеклеточного матрикса хрящевой ткани. Не было установлено различий в интенсивности окраски в зависимости от используемого фактора. При окраске гематоксилин-эозином в клеточных композитах после дифференцировки с TGFβ1/IGF или TGFβ3/IGF выявлено присутствие клеток крупной, округлой формы с эозинофильной цитоплазмой, то есть морфологически подобных хондробластам, и наличие небольшого количества эозинофильного межклеточного вещества (рис. 2 Н–П).

Исследование методом ПЦР на 7-й день хондродифференцировки МСК в 3D-культуре показало, что с использованием как TGFβ1/IGF, так и TGFβ3/IGF возрастает экспрессия гена Coll2 ($p < 0,05$) по сравнению с изначальным уровнем в 30 и 20 раз соответственно (табл. 1).

Важно отметить, что в присутствии TGFβ3/IGF уровень экспрессии Sox9 достоверно увеличился более чем в 2 раза, Coll11 – более чем в 3 раза ($p < 0,05$), что не наблюдалось с TGFβ1/IGF. Также при культивировании клеток с TGFβ3/IGF выявлена положительная корреляция между Coll2 и Coll11 ($R=0,9$), а также Coll11 и Sox9 ($R=0,8$).

Экспрессия гена Coll10, маркера гипертрофии хондроцитов, при применении TGFβ3/IGF была достоверно ниже, чем при дифференцировке с TGFβ1/IGF ($p < 0,05$), тогда как коэф-

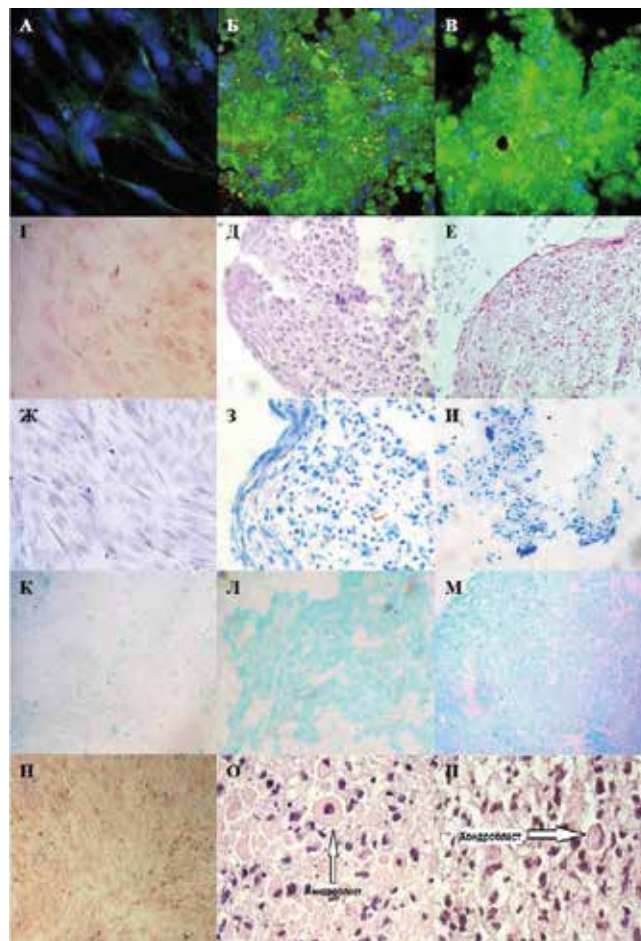


Рис. 2. Окраска компонентов внеклеточного матрикса при дифференцировке МСК в 3D-системе. Окрашивание методом конфокальной микроскопии: А – 0 день, Б – 21-й день при применении TGFβ1/IGF, В – 21-й день при TGFβ3/IGF (обозначения псевдоцветов: зеленый – коллаген II типа, красный – агрекан, синий – ядра клеток). Гистологическое окрашивание сафранином О: Г – 0 день, Д – 21-й день при TGFβ1/IGF, Е – 21-й день при TGFβ3/IGF; окрашивание толуидиновым синим: Ж – 0 день, З – 21-й при применении TGFβ1/IGF, И – 21-й день при TGFβ3/IGF; окрашивание альциановым синим: К – 0 день, Л – 21-й день при TGFβ1/IGF, М – 21-й день при TGFβ3/IGF; окрашивание клеточных композитов гематоксилин-эозином: Н – 0 день, О – 21-й день при TGFβ1/IGF, П – 21-й день при TGFβ3/IGF

фициент соотношения Coll2/Coll10, наоборот, выше ($p < 0,05$), то есть TGFβ3/IGF ингибирует гипертрофию клеток (табл. 1).

Наблюдалось снижение экспрессии Coll1 при использовании как TGFβ1/IGF, так и TGFβ3/IGF в 17 и 14 раз соответственно ($p < 0,05$). Обе комбинации приводили к увеличению соотношения Coll2/Coll1 более чем в 400 раз ($p < 0,05$), что можно рассматривать как подтверждение ста-

	0 день	7-й день TGF1/IGF	p	7-й день TGF3/IGF	p
Coll2	0,0001 (0,00005–0,0005)	0,0017 (0,001–0,0036)*	p<0,05	0,0017 (0,001–0,0043)*	p<0,05
Sox9	0,29 (0,25–0,40)	0,63(0,33–1,06)		0,87 (0,39–1,52)*	p<0,05
Coll1	600,49 (342,51–955,43)	26,16 (12,45–52,31)*	p<0,05	37,79 (20,39–53,82)*	p<0,05
Coll10	0,0013 (0,0005–0,01)	0,032 (0,006–0,14)		0,003(0,001–0,01)	
Coll11	0,01 (0,008–0,037)	0,04(0,01–0,07)		0,08 (0,03–0,13)*	p<0,05
Coll2/ Coll1	0,13 (0,06–1,17)×10 ⁻⁶	90,44 (33,85–159,21)×10 ⁻⁶ *	p<0,05	58,96 (27,61–256,87) ×10 ⁻⁶ *	p<0,05
Coll2/ Coll10	0,07 (0,03–0,17)	0,04 (0,01–0,41)		0,77 (0,40–1,47)*	p<0,05

Таблица 1. Экспрессия генов хондрогенной дифференцировки МСК методом количественной ПЦР в реальном времени в 3D-системе (N=17). * достоверность различий p<0,05

бильности хондродифференцировки, так как в процессе хондрогенеза проходит замещение коллагена I типа на коллаген II типа [19] (табл. 1).

Методом ПЦР на 21-й день дифференцировки в 3D-системе установлено, что при использовании TGFβ1/IGF и TGFβ3/IGF уровень экспрессии генов соответственно составлял: Coll2–0,0015 (0,001–0,004) и 0,0004 (0,0002–0,001), Coll1–42,22 (15,03–115,36) и 27,02 (10,27–80,45), Coll10–0,04 (0,003–0,20) и 0,02 (0,0005–1,17), Coll11–0,06 (0,02–0,19) и 0,04 (0,01–0,07) и достоверно не отличался от экспрессии аналогичных генов на 7-й день. Исключением являлся Sox9, экспрессия которого достоверно росла к 21 дню и достигала 1,25 (0,79–2,28) при культивировании с TGFβ1/IGF и 0,96 (0,47–1,95) – с TGFβ3/IGF. Отмечена корреляция между Sox9 и Coll2 (R=0,7) при TGFβ1/IGF.

На 21-й день культивирования с TGFβ3/IGF наблюдалась корреляция между уровнями экспрессии Coll2 и Coll1 (R=0,9), которая не отмеча-

лась ранее, что можно объяснить первоначальным ростом Coll2 (вплоть до 7 суток) и последующим падением экспрессии этого гена при длительной хондродифференцировке клеток, совпадающим с постоянным снижением экспрессии Coll1. Отмечена положительная зависимость между экспрессией Sox9 и Coll11 (R=0,9) и отрицательная корреляция между Coll11 и Coll10 (R= –0,9).

Хондрогенная дифференцировка МСК в 2D-системе в присутствии TGFβ/IGF

Методом конфокальной микроскопии после 7 суток хондродифференцировки МСК в монослое с TGFβ/IGF выявлен положительный синтез клетками коллагена II типа и агрекана с преимущественной локализацией данных компонентов внутриклеточно (рис. 3 А, Б). Гистологическая окраска толуидиновым синим подтвердила синтез клетками протеогликанов (рис. 3 В, Г). Активацию хондрогенной программы в МСК подтверждает и изменение морфологии клеток. Так, на 2–4-й день дифференцировки заметна трансформация характерной для МСК веретенообразной формы на более округлую, сферическую или, как ее часто описывают в литературе, «бульжничкоподобную» (рис. 3 В, Г) [20–24].

На 7 день хондродифференцировки в монослойной культуре выявлено увеличение экспрессии гена Coll2 в 10 раз и Coll11 в 3 раза (p<0,05), в 95% случаев отмечено снижение Coll1(p<0,05). Не продемонстрированы достоверные изменения для генов Sox9, Coll10, Agg, COMP (табл. 2).

На 7-е сутки индукции хондрогенеза в монослое МСК, как и при дифференцировке в 3D-системе, наблюдалось достоверное увеличение соотношений экспрессии Coll2/Coll10 (p<0,05) и Coll2/Coll1. Кроме того, соотношение Coll2/Agg увеличивалось более чем в 40 раз (p<0,05), что под-

	0 день	7 день	p
Coll2	0,0001(0,00004–0,0001)	0,003(0,0004–0,83)*	p<0,05
Coll1	614,30(115,50–652,58)	150,50(1,17–667,75)	
Coll11	0,01 (0,008–0,02)	0,04 (0,01–0,33)*	p<0,05
Sox9	0,25 (0,25–0,84)	0,33 (0,15–0,60)	
Coll10	0,001(0,0002–0,003)	0,002(0,0007–0,02)	
Agg	0,90 (0,90–1,99)	0,64 (0,38–1,69)	
COMP	0,85 (0,26–1,47)	2,50 (0,27–9,89)	
Coll2/Coll 10	0,04 (0,03–0,68)	3,46 (0,52–32,43)*	p<0,05
Coll2/Coll 1	0,2(0,06–2,73)×10 ⁻⁶	22,3 (0,53–824421,6)×10 ⁻⁶ *	p<0,05
Coll 2/Agg	0,00004(0,00004–0,0002)	0,002 (0,001–1,79) *	p<0,05

Таблица 2. Экспрессия генов хондрогенной дифференцировки методом количественной ПЦР в реальном времени в 2D-системе (N=13). * достоверность различий p<0,05

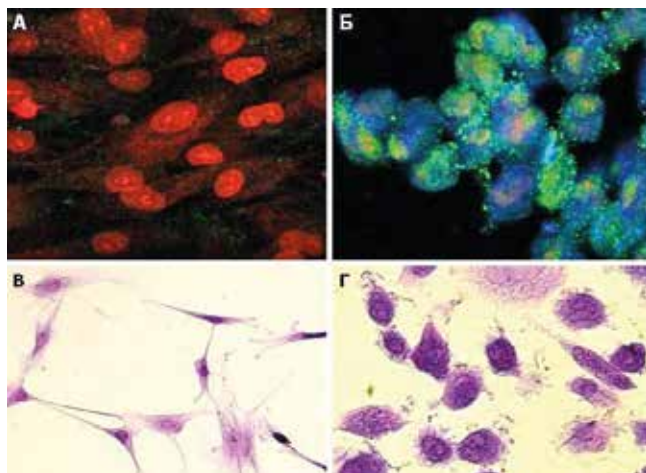


Рис. 3. Исследование накопления компонентов матрикса при хондродифференцировке МСК в монослойной культуре в течение 7 суток. Анализ методом конфокальной микроскопии: А – МСК до дифференцировки, Б – 7-й день дифференцировки; обозначения псевдоцветов: зеленый – коллаген тип II, синий – агрекан, красный – ядра клеток. Гистологическая окраска толуидиновым синим: В – МСК до дифференцировки, Г – 7-й день дифференцировки

тверждает активный процесс индукции МСК в хондрогенном направлении, так как для успешной хондродифференцировки на ранних стадиях синтез коллагенов должен идти более интенсивно, чем синтез протеогликанов [25].

Заключение

Нами установлено, что комбинация ростовых факторов TGFβ/IGF уже на 7-е сутки индуцировала хондродифференцировку МСК при культивировании как в 2D, так и в 3D-системе, поскольку в обоих случаях происходил рост экспрессии гена Coll2, синтез коллагена II типа и агрекана внутриклеточно, снижение экспрессии Coll1, увеличение соотношения Coll2/Coll1, а в 2D-системе и Coll2/Agg. Реализация хондрогенной программы *in vitro* подтверждалась и изменением морфологии клеток с характерной для МСК веретенообразной на «булыжничкоподобную». Отсутствие статистически достоверных различий в экспрессии генов (за исключением Sox9) на 7-е и 21-е сутки дифференцировки, а также падение экспрессии Coll2 к 21 дню является аргументом против продолжительной дифференцировки и позволяет сократить время воздействия TGFβ/IGF на МСК до 7 суток.

Применение коктейля TGFβ3/IGF для индукции хондродифференцировки МСК имело преи-

мущество, так как в его присутствии в 3D-системе на 7-й день в клетках достоверно увеличивалась экспрессия генов Sox9 более чем в 2 раза и Coll11 – более чем в 3 раза ($p < 0,05$), что не наблюдалось при воздействии на МСК TGFβ1/IGF. Кроме того, TGFβ3/IGF сильнее ингибировал процесс гипертрофии при хондрогенезе *in vitro*, так как уровень экспрессии гена Coll10 был достоверно ниже, а соотношение Coll2/10 – выше при его использовании, чем в присутствии TGFβ1/IGF. ■

■ **Summary.** The authors studied the influence of the combination of TGFβ and IGF growth factors, as well as the differentiation time, on the induction of MSC chondrogenesis *in vitro*. It is proved that MSCs located in 2D and 3D systems, when exposed to TGFβ/IGF, showed the signs of early chondroblast-like cells in 7 days. The TGFβ/IGF used for the induction of MSCs is more preferred, because it results in a more pronounced hypertrophic-suppression effect. The absence of significant differences in gene expression (excepting Sox9) on the 7th and 21st days of chondrogenic differentiation allows the process to be reduced *in vitro* to 7 days.

■ **Keywords:** mesenchymal stem cells, chondrogenic differentiation, 2D cell culture systems, 3D cell culture systems.

■ <https://doi.org/10.29235/1818-9857-2021-2-78-83>

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- Zhong L. [et al.]. The Regulatory Role of Signaling Crosstalk in Hypertrophy of MSCs and Human Articular Chondrocytes // *Int J Mol Sci*. 2015. Vol.16(8). P. 19225–19247.
- Dahlin R.L. [et al.]. TGF-β3-induced chondrogenesis in co-cultures of chondrocytes and mesenchymal stem cells on biodegradable scaffolds // *Biomaterials*. 2014. Vol. 35(1). P. 123–132.
- Mackie E.J. [et al.]. Endochondral ossification: How cartilage is converted into bone in the developing skeleton // *Int J Biochem Cell Biol*. 2008. Vol.40. P. 46–62.
- Augustyniak E. [et al.]. The role of growth factors in stem cell-directed chondrogenesis: a real hope for damaged cartilage regeneration // *International Orthopaedics (SICOT)*. 2015. DOI 10.1007/s00264-014-2619-0.
- Goldring M.B. Chondrogenesis, chondrocyte differentiation, and articular cartilage metabolism in health and osteoarthritis // *Theor Adv Musculoskel Dis*. 2012. Vol.4(4). P. 269–285.
- Dong S. [et al.]. Micro RNAs regulate osteogenesis and chondrogenesis // *Biochem Biophys Res Commun*. 2012. Vol.418. P. 587–591.
- Sekiya I. [et al.]. *In vitro* cartilage formation by human adult stem cells from bone marrow stroma defines the sequence of cellular and molecular events during chondrogenesis // *Proc Natl Acad Sci*. 2002. Vol.99. P. 4397–4402.
- Rodrigo A. [et al.]. Chondrogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells: Challenges and Unfulfilled Expectations // *Tissue Eng Part B Rev*. 2014. Vol.20 (6). P. 596–608.
- Danisovic L. [et al.]. Growth factors and chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells // *Tissue and Cell*. 2012. Vol.44. P. 69–73.
- Indrawattana N. [et al.]. Growth factor combination for chondrogenic induction from human mesenchymal stem cell // *Biochem Biophys Res Commun*. 2004. Vol.320. P. 914–919.

Полный список использованных источников размещен

SEE http://innosfera.by/2021/02/stem_cells

Статья поступила в редакцию 26.03.2020 г.