

УДК 602.6/.9

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2018-3-217-228>

Для цитирования: Хлусов И.А., Литвинова Л.С., Юрова К.А., Мелашенко Е.С., Хазиахматова О.Г., Шуплецова В.В., Хлусова М.Ю. Моделирование микроокружения мезенхимных стволовых клеток как перспективный подход к тканевой инженерии и регенеративной медицине (краткий обзор). *Бюллетень сибирской медицины*. 2018; 17 (3): 217–228.

## Моделирование микроокружения мезенхимных стволовых клеток как перспективный подход к тканевой инженерии и регенеративной медицине (краткий обзор)

Хлусов И.А.<sup>1,2,3</sup>, Литвинова Л.С.<sup>3</sup>, Юрова К.А.<sup>3</sup>, Мелашенко Е.С.<sup>3</sup>,  
Хазиахматова О.Г.<sup>3</sup>, Шуплецова В.В.<sup>3</sup>, Хлусова М.Ю.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)  
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

<sup>2</sup> Национальный исследовательский Томский государственный университет (НИ ТГУ)  
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36

<sup>3</sup> Балтийский федеральный университет имени (БФУ) И. Канта  
Россия, 236041, г. Калининград, ул. А. Невского, 14

### РЕЗЮМЕ

Одним из перспективных направлений являются разработка и модификация материалов для контроля жизнедеятельности мультипотентных мезенхимных стромальных клеток (ММСК), которые (ре)конструируют строма различных органов и тканей человека и животных. Тем не менее обсуждение вопроса о существовании и функционировании микроокружения ММСК только начинается. Это тормозит дальнейшее развитие клеточной биологии и тканевой инженерии. Дизайн искусственных материалов, способных к биомиметическому воспроизведению клеточного и тканевого микроокружения, основанный на идеях и элементах, заимствованных у природы, является современным направлением в развитии медицинского материаловедения и тканевой инженерии. Скеффолд-технологии – многообещающий экспериментальный подход к моделированию свойств природного микроокружения для стволовых клеток. Цель – краткий обзор ключевых элементов микротерриторий ММСК, его перспективных исследований и попыток моделирования в приложении к тканевой инженерии и регенеративной медицине.

**Ключевые слова:** стволовые клетки, микроокружение, экстрацеллюлярный матрикс, биоматериалы, кость, биоинженерия.

### ВВЕДЕНИЕ

Природа микроокружения и его взаимодействие со стволовыми клетками являются одним из фундаментальных вопросов биологии и медицины [1]. Большие надежды возлагаются на использование клеточных технологий и тканевой инженерии для коррекции заболеваний в карди-

ологии, пульмонологии, травматологии и ортопедии, других сегментах биомедицины. Компания BCC Research LLC (США, [www.bccresearch.com](http://www.bccresearch.com)) и другие маркетинговые компании прогнозируют ежегодный прирост глобального рынка стволовых клеток и их применения до 2022 г. [2]. Тем не менее использование клеток в режиме клеточной терапии не привело к ожидаемым результатам, что в свое время затормозило развитие зарубежного рынка регенеративной медицины [3].

✉ Хлусов Игорь Альбертович, e-mail: [khlusov63@mail.ru](mailto:khlusov63@mail.ru).

Сделаны многообещающие, но единичные шаги в области реконструкции кровеносных сосудов, сердечного клапана, пищевода, трахеи, мочевого пузыря. В свою очередь, реконструктивные хирургические вмешательства из-за недостаточной биосовместимости и долговечности тканеинженерных конструкций сопровождаются грозными осложнениями (тромбоз, инфаркт, инсульт и т.д.), приводящими к инвалидности и смерти [4]. Как следствие, к числу ожидаемых трендов относят конвергенцию инструментов фармакологии, клеточных технологий, медицинского материаловедения и биоинженерии для создания *in vitro* моделей, приближенных к физиологическим условиям [5].

Согласно классификации [6], эволюция биоматериалов для инженерии тканей выглядит следующим образом. Первое поколение имплантатов на основе принципа биоинертности (минимального взаимодействия с организмом) начало свое развитие с 1950-х гг. Второе поколение на основе принципа биоактивности (резорбируемые материалы с контролируемым взаимодействием с физиологическим микроокружением) появилось и развивается с 1980-х гг. Третья генерация началась в XXI в. и преследует цель структурно-функциональной регенерации тканей на основе стимуляции специфического клеточного ответа на молекулярном уровне. В этом секторе находятся имплантаты с функционализированной поверхностью и биомиметической структурой и (или) поверхностью на основе подражания природному экстрацеллюлярному матриксу (ЭЦМ) [7]. В настоящее время наиболее реальным прототипом ЭЦМ для мезенхимных стволовых клеток (МСК) являются кальцийфосфатные (КФ) материалы и покрытия, имитирующие минеральную часть кости [8].

Современные тенденции приводят к вопросу [9]: что на самом деле сегодня означают понятия «микроокружение стволовых клеток» в целом и «МСК» в частности. Это очень важно, так как ММСК формируют строю любого органа и ткани, влияют на активность других типов стволовых клеток. В настоящем обзоре проведен краткий анализ концепций и разногласий относительно микроокружения МСК у млекопитающих, а также его исследований и возможностей в приложении к тканевой биоинженерии и регенеративной медицине.

## МЕЗЕНХИМНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ И ИХ МИКРООКРУЖЕНИЕ

Разновидность колониеобразующих единиц фибробластов (КОЕ-Ф), стромальные стволовые клетки [10], или МСК [11], были впервые иденти-

фицированы в костном мозге, где они представлены примерно в 10 раз более высоких концентрациях, чем могут быть получены из всех других тканей, где их количество также варьирует [12, 13]. Недавно эти клетки назвали скелетными стволовыми клетками [14].

Международное общество клеточной терапии International Society for Cellular Therapy (ISCT) ввело классификацию, ограничивающую использование термина МСК для клеток, которые соответствуют критериям стволовых клеток, и рекомендовало термин «мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки» (ММСК) для фибробластоподобных клеток, адгезирующих к пластику, независимо от их тканевого происхождения [15]. Минимальные критерии ММСК, установленные ISCT, следующие: 1) прилипание к пластику; 2) экспрессия кластеров дифференцировки CD73, CD90 и CD105; 3) отсутствие экспрессии CD45, CD34, CD14 или CD11b, CD79a или CD19 антигенов; 4) наличие HLA-DR поверхностных молекул; 5) способность дифференцироваться *in vitro* в остеогенном, хондрогенном и адипогенном направлении [16].

Популяция МСК весьма гетерогенна [15, 17, 18], и они широко распределены *in vivo*. Существуют центральный (костный мозг) и региональные тканевые пулы МСК (амнион, плацента, жировая ткань, надкостница, синовиальная оболочка, скелетные мышцы, дерма, перicytes, кровь, трабекулярная кость, пуповинная кровь, легкие) [15, 19, 20], которые реагируют на травмы посредством клеточного хоуминга и паракринной регуляцией. Пул МСК – это редкая (приблизительно 0,001–0,01%) популяция в костном мозге взрослого человека [21].

Первичную роль МСК как компонента гемопоез-индуцирующего микроокружения (ГИМ) являются обеспечение выживаемости гемопоэтических стволовых клеток (ГСК), поддержание их в состоянии покоя или дифференцировки, репарация тканевых повреждений [22] за счет секреции факторов роста, межклеточного взаимодействия и продукции матричных структурных белков. Данная популяция МСК имеет потенциал для регенеративной медицины. Предполагают, что МСК играют роль в поддержании тканевого гомеостаза, все чаще признаются компонентами ниш стволовых клеток. Подробная историческая информация и современное понимание взаимодействия МСК, ГИМ представлены в работе [15]. Длинный список биологически важных паракринных и аутокринных молекул, продуцируемых МСК, постоянно обновляется [13, 23].

Предполагается, что МСК располагаются в собственных микротерриториях костного мозга, в которых они способны самообновляться и генерировать зрелые клетки соединительной ткани и стромы [23]. Только недавно в научной литературе началась основательная дискуссия о существовании и функционировании микротерритории (ниши) для жизнедеятельности МСК. Что такое микроокружение и микротерритория для МСК? Имеют ли ГСК и МСК одни и те же ниши и коммуникативные сигналы для управления пролиферацией и дифференцировкой [23]? В настоящее время это нерешенные вопросы.

Существуют трудности в локализации анатомических участков (микротерриторий) расположения МСК в полости костного мозга [13]. Так, МСК обнаружены в стенке кровеносных сосудов костного мозга человека и зубной пульпе с помощью маркеров Stro-1 и CD146 [24]. Эти клетки также экспрессировали  $\alpha$ -гладкомышечный актин ( $\alpha$ -ГМА); некоторые из МСК экспрессировали 3G5, маркер клеточной поверхности перицитов, как описано в [25]. М. J. Doherty и соавт. (1999) предположили, что перициты фактически являются МСК, потому что они могут дифференцироваться в остеобласты, хондроциты и адипоциты [26]. Соответственно, некоторые исследователи предполагают периваскулярную природу микротерриторий МСК на основе экспрессии  $\alpha$ -ГМА в МСК, выделенных из всех тестируемых типов тканей [12].

Установлено, что пролиферативная способность ММСК человека лучше обеспечивается *in vitro* при гипоксическом состоянии в отличие от нормоксии (2 и 20% кислорода соответственно) [27]. С. М. Kolf и соавт. (2007) предположили индуцированное гипоксией усиление пролиферативной способности («стволовости») и пластичности ММСК [25]. В этом случае микротерритории МСК, как полагают, располагаются вдоль участков эндоста, в которых есть гипоксическая микросреда. Действительно, наш недавний эксперимент показал остеогенную дифференциацию и созревание пренатальных стромальных клеток из легких человека (региональный пул МСК) при краткосрочном *in vitro* контакте с шероховатым скаффолдом КФ, имитирующим минеральное вещество кости [28].

## ЭКСТРАЦЕЛЛЮЛЯРНЫЙ МАТРИКС

Ключевые структурно-функциональные компоненты клеточного микроокружения включают растворимые факторы, контакты клеток между собой и с элементами ЭЦМ. Хорошо изученная

структура микроокружения костного мозга может быть подразделена на подвижные компоненты (клетки и гуморальные вещества, например, Т-лимфоциты, гормоны, нейротрансмиттеры и т.д.) и резидентные стромальные элементы, которые фиксируются в определенных областях, чтобы сформировать их волокнисто-сетчатую структуру. Морфологические компоненты микроокружения ранее были определены [29] следующим образом: 1) кровеносные сосуды; 2) тканевый компонент, состоящий из резидентных и мигрирующих клеток, проникающих в ЭЦМ, состоящий, в свою очередь, из волокон и растворимых (свободных и фиксированных) молекул; 3) нервные окончания.

Компоненты микроокружения контролируют «судьбу» стволовых клеток прямым (посредством взаимодействий «клетка – клетка» и «клетка – матрикс») и непрямым (через растворимые молекулы) способом. ЭЦМ регулирует распределение факторов роста в пространстве и времени путем связывания и ограничения их диффузии, модулируя эффекты матрикса и межклеточных контактов [30]. Компоненты ЭЦМ в общем случае включают в себя:

1. Фибриллярные белки, которые содержат коллаген, ретикулиновые волокна, фибронектин, ламинин, тенасцин, гемонектин и некоторые другие компоненты нитевидной сети. Считается, что коллаген играет ключевую роль среди белков ЭЦМ, обеспечивая его механическую стабильность [31]. Волокнистый ЭЦМ (например, фибронектин и ламинин) связывает трансмембранные интегрины клеток через последовательности аргинин–глицин–аспарагиновая кислота. Это способствует взаимодействию интегринов с цитоскелетом в фокальных адгезионных комплексах (белковые агрегаты, которые включают в себя винкулин,  $\alpha$ -актинин и талин). В свою очередь, такое взаимодействие инициирует продукцию внутриклеточных мессенджеров или напрямую опосредует ядерные сигналы. В совокупности изменения в цитоскелете и цитозольные компоненты сигнальных путей приводят к трансформации формы, движению, пролиферации и дифференцировке клеток [7, 32]. Адгезивные, «якорные», связывающие и эпигенетические нюансы гликопротеинов ЭЦМ и их интегриновых рецепторов подробно описаны [7, 19, 33, 34].

2. Гликозаминогликаны, прежде всего гиалуроновая кислота (ГА), являются важным компонентом ЭЦМ. ГА (до 40% всех гликозаминогликанов в костном мозге) [31] является известным полимером для поддержания роста

эмбриональных стволовых клеток (ЭСК) человека в недифференцированных массах, так называемых эмбрионидных тельцах [35]. ГА играет роль модулятора поддерживающей функции микротерриторий костного мозга через ее рецептор CD44 (многофункциональный трансмембранный белок), экспрессирующийся широким спектром клеток, включая МСК [13] и ГСК [36]. С. Chung и соавт. (2008) показали способность гидрогелей ГА способствовать хондрогенной дифференцировке инкапсулированных МСК человека [37].

3. Многочисленные растворимые факторы (например, цитокины, факторы роста, ионы) в ЭЦМ запускают внутриклеточные сигнальные пути с помощью мембранных рецепторов и ионных каналов.

В то же время еще не определены конкретные компоненты микроокружения, которые помогают поддерживать MSC в их наивном состоянии [25]. Однако МСК представляют собой специфическую микротерриторию (и располагаются в ней), скомбинированную из белков ЭЦМ с уникальными свойствами. Например, F. Djouad и соавт. (2007) предположили, что индукция дифференцировки МСК в хондроциты в суставном хряще может быть индуцирована и (или) подвержена влиянию молекул микроокружения. Поэтому перекрестные взаимодействия между ЭЦМ, другими компонентами микроокружения и МСК в хряще ответственны за их хондрогенную дифференцировку [38]. ЭЦМ, продуцируемый остеобластами на титановых каркасах после его децеллюлиризации, увеличил экспрессию маркеров остеогенеза, такие как ALP и осаждение кальция, в засеянных МСК [39]. ЭЦМ, откладываемый эндотелиальными клетками микрососудистого русла, усиливает обусловленный МСК эндотелиогенез [25].

Структура ЭЦМ, подобная кости, может регулировать дифференцировку МСК в остеобласты (см. ниже). Исходя из этого, свойства ЭЦМ лежат в основе развития, иерархии и функций микротерриторий МСК с потенциальными приложениями для тканевой инженерии и регенеративной медицины. В настоящее время необходима количественная и молекулярная информация о взаимодействии ЭЦМ и МСК.

## **КОСТЬ КАК СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫЙ ЭКСТРАЦЕЛЛЮЛЯРНЫЙ МАТРИКС ДЛЯ МСК**

В настоящее время знания о значении костной ткани для жизнедеятельности МСК совершенно недостаточны. Существуют данные о том, что сам костный ЭЦМ может регулировать дифференци-

ровку МСК с потенциальными приложениями для тканевой инженерии. Известно, что минерализация искусственных скаффолдов является эффективным методом для повышения адгезии клеток, стимулирования остеогенной дифференцировки МСК и улучшения остеоинтеграции имплантированных материалов [40].

Вокруг области, где остеобласты и остеокласты активно ремоделируют кость, немедленно возникает повышение концентрации ионов кальция. Костные клетки, особенно остеобласты, хондроциты и остеокласты, проявляют функциональные реакции на ионизированный кальций ( $Ca^{2+}$ ). D.T. Scadden (2007) предположил, что стволовая клетка может распознавать содержание внеклеточного кальция [41]. Недавно было обнаружено, что кальцийчувствительный рецептор (CaR) способствует удерживанию ГСК на эндостальной поверхности кости. CaR [42] – член семейства белковых мембранных рецепторов, который не является кальциевым каналом, но распознает внеклеточный кальций. Он реагирует на многие внеклеточные катионы (гадолиний, алюминий), причем основным лигандом является кальций [43].

Y.K. Liu и соавт. (2009) установили *in vitro* существенное влияние внеклеточного  $Ca^{2+}$  и неорганического фосфата (Pn) на рост и остеогенную дифференцировку МСК костного мозга кролика. Их результаты показали, что оптимальные внеклеточные концентрации  $Ca^{2+}$  и Pn для пролиферации и дифференцировки клеток составляют, соответственно, 1,8 и 0,09 мМ. Подобные концентрации ионов применяются во многих широко используемых средах для культивирования, таких как DMEM и  $\alpha$ -MEM. Высокие концентрации  $Ca^{2+}$  не меняли клеточной пролиферации, но значительно ингибировали дифференцировку клеток и улучшали клеточную минерализацию. В свою очередь, деление и дифференцировка МСК значительно уменьшались при изменении оптимальной концентрации Pn как в большую, так и в меньшую сторону. Высокие концентрации Pn также приводили к значительному апоптозу клеток [44].

Таким образом, костная ткань подвергается на протяжении всей жизни процессу ремоделирования посредством динамического равновесия между образованием кости остеобластами (производное МСК) и резорбцией кости остеокластами, которые являются кроветворными по происхождению [45]. Ремоделирование кости обеспечивает  $Ca^{2+}$  для CaR стволовых клеток около эндоста, как было предложено [41], и Pn с собственной

биологической активностью. Как факт, не только ионизированный кальций, но и фосфат-ионы в качестве продуктов метаболизма минерального костного матрикса могут химически влиять на стволовые клетки. Ионы с положительным или отрицательным зарядом влияют на величину дзета-потенциала клетки, которая связана с (транс)мембранным потенциалом. В свою очередь, гиперполяризация клеточных мембран способствует остеогенной (экспрессии гена щелочной фосфатазы, внутриклеточному уровню кальция) дифференцировке МСК человека в отличие от их деполаризованного состояния [46, 47].

Более того, постоянно меняется рельеф поверхности кости. Происходит фатальное разрушение микроокружения остеобластов и МСК в сайтах ремоделирования кости. Каждый сайт трабекулярной или кортикальной кости подвергается физиологическому ремоделированию в среднем каждые 3–10 лет [48]. Таким образом, микроокружение МСК не может быть стабильной структурой, их микротерритории могут появляться *de novo*. Кость является природным субстратом для МСК костного мозга, а топография поверхности минерализованной кости существенно влияет на судьбу клетки [49].

Так, мы выдвинули гипотезу о различном физико-химическом влиянии поверхности гладкой или шероховатой поверхности кости (преимущественно ее минерального матрикса) на спокойное или активное состояние микроокружения стволовых клеток соответственно [50]. Мононуклеарные лейкоциты крови (Т-клетки, В-клетки, моноциты) модулируют цикличность состояния кости в норме, при стрессе и заболеваниях (например, при несовершенном остеогенезе) [51, 52].

## МОДЕЛИРОВАНИЕ МИКРООКРУЖЕНИЯ МСК

Биоматериалы, как быстро развивающаяся отрасль медицинского материаловедения для точного и близкого к физиологическому отображения и воспроизведения регуляторных сигналов для стволовых клеток, создают полезное искусственное микроокружение, в котором можно изучать и управлять поведением стволовой клетки как *in vitro*, так и *in vivo*. Синергизм клеточных биотехнологий и технологий создания биоматериалов оказывает глубокое влияние на исследование биологии стволовых клеток и дает представление о клинических подходах к биоинженерии и регенерации тканей на основе стволовых клеток [53]. Способность наилучшим способом спроектировать

искусственный ЭЦМ, который может контролировать поведение клеток посредством физических и молекулярных взаимодействий, позволит расширить наши возможности в инженерии биологических тканей из постнатальных или эмбриональных стволовых клеток [7, 54].

ЭЦМ различных тканей (кость, костный мозг, мозг, миокард и т.д.) разнообразен по своим физико-химическим свойствам. Закон Вольфа о росте и ремоделировании костей, сформулированный в 1892 г., гласит, что нагрузки на кость приводят к изменениям ее структуры, массы и прочности. Очевидно, что закон может быть применен к взаимосвязи между структурой ЭЦМ и структурой, функциями и направлениями коммитирования стволовых клеток. Сегодня уже выявлены ключевые физико-химические параметры искусственного ЭЦМ, которые влияют на клетки. А именно: структура и механические свойства [55]; механическая целостность, степень деградации скаффолдов, транспорт жидкости [56]; распознаваемые клеткой химические свойства поверхности, способность индуцировать сигнальную трансдукцию [57]; свободная поверхностная энергия и смачиваемость [58]; поверхностный электрический заряд [59, 60]; химический состав [61]; поверхностная геометрия, топография и жесткость [62].

Известно, что широкая вариация жесткости матрикса для клеток оказывает влияние на фокально-адгезионную структуру и цитоскелет [63, 64]. Механотрансдукция – современное направление изучения стромальных механоцитов (фибробластов, ретикулярных клеток) [65], а также клеток-предшественников [66]. Твердые и мягкие ткани проявляют диапазон жесткости, измеряемый модулем упругости (E). Стволовые клетки могут обладать представительным ансамблем сигнальных путей, реагирующих на силовые нагрузки, сенсibiliзирующих их к трехмерному (3D) микроокружению, состояние которого физически варьирует от текучих жидкостей к плотным тканям с различной эластичностью.

Было определено, что нейрогенные маркеры МСК значительно повышаются на полиакриламидных гелях с  $E = 0,1–1,0$  кПа. При культивировании МСК на жестких гелях, которые имитируют эластичность мышц ( $E = 8–17$  кПа) и покрытых коллагеном I типа, экспрессия миогенных маркеров повышалась. Когда наивные МСК выращивают на твердых гелях ( $E = 34$  кПа), которые имитируют кальцинированную кость, клетки проявляют остеогенный фенотип [66]. Авторы показали, что растворимые факторы клеточной

индукции менее селективны, чем жесткость искусственного матрикса, и не могут перепрограммировать МСК, которые предварительно коммитировали в течение нескольких недель на применяемых матриксах.

Таким образом, тщательно изготовленные биомиметические материалы с четко определенными количественными параметрами могут обеспечить контроль популяции специфических предшественников посредством эпигенетических сигналов ЭЦМ. Контроль размеров микротерриторий в составе ЭЦМ имеет важное значение для минимизации перепадов кислорода, других физических или химических факторов, которые регулируют судьбу стволовых клеток [67]. Например, для контроля *in vitro* область роста МСК человека с помощью микроструктурированных образцов группа авторов [68] напечатала двумерные (2D) фибронектиновые островки и культивировала в течение 1 нед одиночные МСК с подавленной пролиферацией на островках микронного размера. Авторы обнаружили, что в культуре непродлиферирующих МСК адипогенез проявлялся на малых островках фибронектина (площадь 1 024 мкм<sup>2</sup>), остеогенез – на больших островках (10 000 мкм<sup>2</sup>), что способствует прилипанию и распластыванию клеток. Было сделано заключение, что одна только форма клетки способна определять направление коммитирования МСК с помощью изменения напряжения цитоскелета.

Рост костной ткани в 3D пористой КФ керамике наблюдается *in vivo* при диаметре пор 100–800 мкм [69, 70], что соответствует приблизительным сечениям их площадей 8 тыс. – 500 тыс. мкм<sup>2</sup>. Адгезивные круговые микродомены (диаметр 100–400 мкм) на стеклянных поверхностях могут быть изготовлены посредством фотолитографии. При этом обнаружено, что круговые области с линейным размером 200 мкм являются оптимальными для дифференцировки стволовых клеток мыши в кардиоциты в агрегатах ЭСК одного размера [71].

R. Peerani и соавт. (2007) разработали методы культивирования ЭСК человека в микроокружении, сформированном с помощью микроструктурированных колоний на экстрацеллюлярном матричном субстрате (Matrigel<sup>TM</sup>), отпечатанном с различными характеристиками. Полидиметилсилоксановые штампы с диаметром 200–800 мкм и расстоянием между ними 500–1 000 мкм были изготовлены с использованием стандартных методов мягкой литографии. ЭСК высевали в виде отдельных клеток на микроструктурированные подложки и культивировали без каких-либо экзогенных факторов роста. Снижение плюрипотент-

ности (усиленная дифференцировка) ЭСК человека наблюдалось при диаметре микротерриторий, равном 200 мкм. Предполагалось, что размер колонии изменяет отношение периметра к внутренним клеткам, а также уровни и распределение механических напряжений внутри колонии, влияя на экспрессию генов и обратную связь паракринных сигналов [72]. Авторы пришли к выводу, что продемонстрировали роль размера микротерритории для контроля самообновления ЭСК человека.

A.P.D.N. de Barros и соавт. (2010) разработали *in vitro* комплексную многоклеточную трехмерную модель сфероидов с МСК из кости человека, недифференцированную (неиндуцированную) или индуцированную в течение 1 нед к дифференцировке в остеобласты. Через 4 сут МСК формировали сфероидные структуры диаметром около 400 мкм ((420 ± 23,7) мкм, размер коррелировал с 6–50 тыс. засеянных клеток) со сложной трехмерной сетью, имитирующей ретикулярные клетки в костномозговой полости. Смешанные сфероиды имели остеоиндуцированные МСК в центре и неиндуцированные МСК вокруг сфероидов, имитирующих микроокружение костного мозга вблизи эндоста. С помощью остеоиндуцированных сфероидов авторы пытались имитировать трабекулярную кость, окруженную ретикулярными клетками костного мозга. Кроветворные CD34<sup>+</sup>-предшественники с ограниченной пролиферацией и миграцией были расположены в непосредственной близости от остеоиндуцированных МСК [73].

С 1964 г. A.S. Curtis и M. Varde предположили важное влияние рельефа поверхности на поведение клеток [74]. Широкий диапазон клеток (фибробласты, остеобласты, остеокласты, нервные клетки, МСК, ЭСК и т.д.) реагируют на поверхностную микро- [74, 75] и нанотопографию; нанотопография считается основным фактором, влияющим на клетки *in vitro* [61, 76].

Тем не менее в присутствии биомеханических сил получается другой результат в условиях *in vivo* подкожного теста у мышей. Только макромасштабированные канавки шириной и глубиной 1 мм на субмикрощероховатой (средний индекс шероховатости Ra < 500 нм) КФ поверхности способствовали сохранению костного мозга донора на поверхности образцов и ремоделированию системы «кость – костный мозг». Гладкие наношероховатые КФ скаффолды не способствовали эктопическому росту МСК [50]. Таким образом, выраженная трехмерная структура (текстура) ЭЦМ имеет собственный *in vivo* потенциал для регулирования судьбы стволовых клеток [77].

Таким образом, структура материалов может использоваться для моделирования ЭЦМ для МСК. Ключевые элементы микроокружения известны, но «коктейль» биофизических механизмов непонятен. Достигнутые результаты неоднозначны, и различные условия изготовления скаффолдов признаются в качестве возможных факторов, обуславливающих неоднозначность результатов [78]. Тем не менее проектирование искусственных матриц, которые могут имитировать количественные параметры микроокружения тканей и регулировать соответствующую дифференцировку стволовых клеток, является перспективным подходом к терапевтическим приложениям [25].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение способности поддерживать жизнедеятельность стволовых клеток и тканей внутри и вне организма требует существенного усиления для продвижения клинических применений. Выделенные из тканей стволовые клетки быстро теряют свой статус, функцию и жизнеспособность. Ухудшение функции стволовых клеток происходит из-за того, что отсутствует сеть микроокружения (межклеточные контакты, контакты с матрицсом, фиксированные нерастворимые адгезионные белки и поддерживающие клетки). Лучше поддерживать клетки внутри их привилегированного микроокружения, где они не теряют своих особых характеристик, где их специализация может быть запрограммирована, сохранена и отрегулирована *in vitro* и *in vivo* в течение длительного времени.

Ключевая концепция заключается в том, что поверхность и объем биоматериала должны содержать специфическую химическую и структурную информацию, которая контролирует формирование ткани способом, аналогичным межклеточным связям и паттернам в течении эмбрионального развития [7]. Успешное применение стволовых клеток в биоинженерии новых тканей и восстановлении поврежденных зависит от использования подходящего биоинженерного каркаса для поддержания нативного 3D-распределения клеток, применения подходящих молекул для развития тканеспецифического ЭЦМ [79].

Индивидуализированное искусственное микроокружение может помочь преодолеть проблемы трансплантации стволовых клеток и тканевой биоинженерии. Плодородной стратегией является непосредственное использование природного ЭЦМ после удаления из него клеток. В качестве альтернативы ЭЦМ копируется на основе биоматериалов, схожих с ним по структуре и функциям.

Наиболее перспективными субстратами, которые все чаще соответствуют нативному ЭЦМ, являются белковые полимеры и синтетические полимеры с олигопептидными добавками, рецепторами адгезии, растворимыми и нерастворимыми лигандами, которые способствуют межклеточным взаимодействиям и стимулируют ремоделирование естественных тканей [80, 81].

Перспективной стратегией является определение размеров структурно-функциональных микротерриторий для поэтапного моделирования физико-химических и эпигенетических особенностей, которые влияют на программу развития стволовых клеток.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

## ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Минобрнауки России, соглашение № 14.575.21.0164 от 26.09.17 (уникальный идентификатор RFMEFI57517X0164) в рамках Федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы».

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Terskikh V.V., Vasiliev A.V., Vorotelyak E.A. Stem Cell Niches. *Biology Bull.* 2007; 34 (3): 211–220. DOI: 10.1134/S1062359007030016.
2. The global market for stem cells (Report ID: 2274672, March 2018): 162 p. URL: <https://www.reportbuyer.com/product/2274672/the-global-market-for-stem-cells.html>; last visit 12.05.2018.
3. Зорин В.Л., Зорина А.И., Черкасов В.Р. Анализ зарубежного рынка регенеративной медицины. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия.* 2009; 4: 68–78. [Zorin V.L., Zorina A.I., Cherkasov V.R. Analysis of the overseas market of regenerative medicine. *Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya.* 2009; 4: 68 (in Russ.).]
4. Holmes D.R. Jr. State of the art in coronary intervention. *Am. J. Cardiol.* 2003; 91: 50A–53A.
5. Schrattenholz A., Klemm M. How human embryonic cell research can impact in-vitro drug screening technologies of the future. *Drug Testing In Vitro: Breakthroughs and Trends in Cell Culture Technology.* Weinheim: WILEY-VCH Verlag Gmbh Co., 2007: 205–228.
6. Rabkin E., Schoen F.J. Cardiovascular tissue engineering. *Cardiovasc. Pathol.* 2002; 11 (6): 305–317. [https://doi.org/10.1016/S1054-8807\(02\)00130-8](https://doi.org/10.1016/S1054-8807(02)00130-8).

7. Ratner B.D., Hoffman A.S., Schoen F.J., Lemons J.E. Biomaterials Science: an introduction to Materials in Medicine. 2<sup>nd</sup> ed. San Diego: Elsevier Academic Press, 2004: 864.
8. Khlusov I.A., Shevtsova N.M., Khlusova M.Y. Detection in vitro and quantitative estimation of artificial microterritories which promote osteogenic differentiation and maturation of stromal stem cells. *Methods Mol. Biol.* 2013; 1035: 103–119. DOI: 10.1007/978-1-62703-508-8\_9.
9. Lander A.D., Kimble J., Clevers H., Fuchs E., Montarras D., Buckingham M., Calof A.L., Trumpp A., Oskarsson T. What does the concept of the stem cell niche really mean today? *BMC Biology.* 2012; 10: 19. DOI: 10.1186/1741-7007-10-19.
10. Owen M., Friedenstein A.J. Stromal stem cells: marrow-derived osteogenic precursors. *Ciba Found. Symp.* 1988; 136: 42–60.
11. Caplan A.I. Mesenchymal stem cells. *J. Orthop. Res.* 1991; 9: 641–650.
12. Da Silva Meirelles L., Chagastelles P.C., Nardi N.B. Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues. *J. Cell Sci.* 2006; 119: 2204–2213. DOI: 10.1242/jcs.02932
13. Aerts F., Wagemaker G. Mesenchymal stem cell engineering and transplantation. In: Nolte J.A., Ed. Genetic engineering of mesenchymal stem cells. The Netherlands: Springer, 2006: 1–44. DOI: 10.1007/1-4020-3959-X\_1.
14. Bianco P., Robey P.G. Skeletal stem cells. In: Lanza R., Ed. Handbook of Stem Cells. V. 2. New York: Academic Press. 2004: 415–424. DOI:10.1016/B978-012436643-5/50129-2.
15. Kfoury Y., David T., Scadden D.T. Mesenchymal cell contributions to the stem cell niche. *Cell Stem Cell.* 2015; 16: 239–253. <http://dx.doi.org/10.1016/j.stem.2015.02.019>.
16. Dominici M., Le Blanc K., Mueller I., Slaper-Cortenbach I., Marini F., Krause D., Deans R., Keating A., Prockop D.J., Horwitz E. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy.* 2006; 8: 315–317. DOI: 10.1080/14653240600855905.
17. Han W., Yu Y., Liu X.Y. Local signals in stem cell-based bone marrow regeneration. *Cell Research.* 2006; 16: 189–195. DOI:10.1038/sj.cr.7310026.
18. Ho A.D., Wagner W., Franke W. Heterogeneity of mesenchymal stromal cell preparations. *Cytotherapy.* 2008; 10: 320–330. DOI: 10.1080/14653240802217011.
19. Docheva D., Popov C., Mutschler W., Schieker M. Human mesenchymal stem cells in contact with their environment: surface characteristics and the integrin system. *J. Cell Mol. Med.* 2007; 11 (1): 21–38. DOI: 10.1111/j.1582-4934.2007.00001.x.
20. Armstrong L., Lako M., Buckley N., Lappin T.R., Murphy M.J., Nolte J.A., Pittenger M., Stojkovic M. Editorial: Our Top 10 Developments in Stem Cell Biology over the Last 30 Years. *Stem cells.* 2012; 30: 2–9. DOI: 10.1002/stem.1007.
21. Pittenger M.F., Mackay A.M., Beck S.C., Marshak D.R. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science.* 1999; 284: 143–147. DOI: 10.1126/science.284.5411.143.
22. Tuljapurkar S.R., Jackson J.D., Brusnahan S.K., O’Kane B.J., Sharp J.G. Characterization of a mesenchymal stem cell line that differentiates to bone and provides niches supporting mouse and human hematopoietic stem cells. *Stem Cell Discovery.* 2012; 2 (1): 5–14. DOI: 10.4236/scd.2012.21002.
23. Nardi N.B., da Silva Meirelles L. Mesenchymal stem cells: isolation, in vitro expansion and characterization. *Handb. Exp. Pharmacol.* 2006; 174: 249–282.
24. Shi S., Gronthos S. Perivascular niche of postnatal mesenchymal stem cells in human bone marrow and dental pulp. *J. Bone Miner. Res.* 2003; 18: 696–704. DOI: 10.1359/jbmr.2003.18.4.696.
25. Kolf C.M., Cho E., Tuan R.S. Mesenchymal stromal cells. Biology of adult mesenchymal stem cells: regulation of niche, self-renewal and differentiation. *Arthritis Res. Ther.* 2007; 9 (1): 204–219. DOI: 10.1186/ar2116.
26. Doherty M.J., Canfield A.E. Gene expression during vascular pericyte differentiation. *Crit. Rev. Eukaryot Gene Expr.* 1999; 9: 1–17.
27. Grayson W.L., Zhao F., Izadpanah R., Bunnell B., Ma T. Effects of hypoxia on human mesenchymal stem cell expansion and plasticity in 3D constructs. *J. Cell Physiol.* 2006; 207: 331–339. DOI: 10.1002/jcp.20571.
28. Khlusov I.A., Khlusova M.Yu., Zaitsev K.V., Kolokol'tsova T.D., Sharkeev Yu.P., Pichugin V.F., Legostaeva E.V., Trofimova I.E., Klimov A.S., Zhdanova A.I. Pilot *in vitro* study of the parameters of artificial niche for osteogenic differentiation of human stromal stem cell pool. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2011; 150 (4): 535–542. DOI: 10.1007/s10517-011-1184-4.
29. Tavassoli M. Studies on hemopoietic microenvironments. *Exp. Hematol.* 1975; 3: 213–226.
30. Discher D.E., Mooney D.J., Zandstra P.W. Growth factors, matrices, and forces combine and control stem cells. *Science.* 2009; 324 (5935): 1673–1677. DOI: 10.1126/science.1171643.
31. Dygai A.M., Zhdanov V.V. Theory of hematopoiesis control. In: SpringerBriefs in Cell Biology. V.5. Switzerland: Springer International Publishing, 2014: 1–93.
32. Ingber D.E. Mechanical signaling and the cellular response to extracellular matrix in angiogenesis and cardiovascular physiology. *Circ. Res.* 2002; 91: 877–887.
33. Taichman R.S. Blood and bone: two tissues whose fates are intertwined to create the hematopoietic stem-cell niche. *Blood.* 2005; 105 (7): 2631–2639. DOI: 10.1182/blood-2004-06-2480.
34. Stabenfeldt S.E., Brown A.C., Barker T.H. Engineering ECM complexity into biomaterials for directing cell fate. In: Gefen Amit, Ed. Studies in Mechanobiology, Tissue Engineering and Biomaterials. V. 2. Roy K., Ed. Biomaterials as Stem Cell Niche. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2010: 1–18. DOI: 10.1007/8415\_2010\_32.

35. Gerecht S., Burdick J.A., Ferreira L.S., Townsend S.A., Langer R., Vunjak-Novakovic G. Hyaluronic acid hydrogel for controlled self-renewal and differentiation of human embryonic stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2007; 104 (27): 11298–11303. DOI: 10.1073/pnas.0703723104.
36. Iwasaki H., Suda T. Hematopoietic stem cells and their niche. In: Kondo M., Ed. *Hematopoietic Stem Cell Biology, Stem Cell Biology and Regenerative Medicine*. New York: Humana Press, 2010: 37–55. DOI: 10.1007/978-1-60327-347-3.
37. Chung C., Burdick J.A. Influence of three-dimensional hyaluronic acid microenvironments on mesenchymal stem cell chondrogenesis. *Tissue Eng. Part A*. 2009; 15 (2): 243–254. DOI: 10.1089/ten.tea.2008.0067.
38. Djouad F., Delorme B., Maurice M., Bony C., Apparailly F., Louis-Plence P., Canovas F., Charbord P., Noël D., Jorgensen C. Microenvironmental changes during differentiation of mesenchymal stem cells towards chondrocytes. *Arthritis Res. Ther.* 2007; 9 (2): R33. DOI: 10.1186/ar2153.
39. Datta N., Holtorf H.L., Sikavitsas V.I., Jansen J.A., Mikos A.G. Effect of bone extracellular matrix synthesized in vitro on the osteoblastic differentiation of marrow stromal cells. *Biomaterials*. 2005; 26 (9): 971–977. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2004.04.001.
40. Phadke A., Chang C.-W., Varghese S. Functional biomaterials for controlling stem cell differentiation. In: Gefen Amit, Ed. *Studies in Mechanobiology, Tissue Engineering and Biomaterials*. V. 2. Roy K., Ed. *Biomaterials as Stem Cell Niche*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2010: 19–44.
41. Scadden D.T. The stem cell niche in health and leukemic disease. *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* 2007; 20 (1): 19–27. DOI: 10.1016/j.beha.2006.11.001.
42. McNeil S.E., Hobson S.A., Nipper V., Rodland K.D. Functional calcium-sensing receptors in rat fibroblasts are required for activation of SRC kinase and mitogen-activated protein kinase in response to extracellular calcium. *J. Biol. Chem.* 1998; 273: 1114–1120.
43. Theman T.A., Collins M.T. The Role of the calcium-sensing receptor in bone biology and pathophysiology. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 2009; 10 (3): 289–301.
44. Liu Y.K., Lu Q.Z., Pei R., Ji H.J., Zhou G.S., Zhao X.L., Tang R.K., Zhang M. The effect of extracellular calcium and inorganic phosphate on the growth and osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells in vitro: implication for bone tissue engineering. *Biomed. Mater.* 2009; 4 (2): 025004. DOI: 10.1088/1748-6041/4/2/025004.
45. Purton L.E., Scadden D.T. The hematopoietic stem cell niche. In: *The Stem Cell Research Community ed. StemBook*. Cambridge (MA): Harvard Stem Cell Institute, 2008. URL: doi/10.3824/stembook.1.28.1.
46. Sundelacruz S., Levin M., Kaplan D.L. Membrane potential controls adipogenic and osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *PLoS One*. 2008; 3 (11): e3737. DOI: 10.1371/journal.pone.0003737.
47. Undelacruz S., Levin M., Kaplan D.L. Role of membrane potential in the regulation of cell proliferation and differentiation. *Stem Cell Rev.* 2009; 5: 231–246. DOI: 10.1007/s12015-009-9080-2.
48. Riggs B.L., Melton III L.J. *Osteoporosis: Etiology, diagnosis, and management*. 2<sup>nd</sup> ed. Philadelphia. New York: Lippincott-Raven Publ., 1995: 524.
49. Dellatore S.M., Garsia A.S., Miller W.M. Mimicking stem cell niches to increase stem cell expansion. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2008; 19 (5): 534–540. DOI: 10.1016/j.copbio.2008.07.010.
50. Khlusov I.A., Shevtsova N.M., Khlusova M.Yu., Zaytsev K.V., Sharkeev Y.P., Pichugin V.F., Legodtaeva E.V. Niche-relief conception for stem cells as a basis of biomimetic approach to bone and hemopoietic tissues engineering. *Cellular Transplantation and Tissue Engineering*. 2011; 6 (2): 55–64.
51. Pacifici R. The immune system and bone. *Arch. Biochem. Biophys.* 2010; 503 (1): 41–53. DOI: 10.1016/j.abb.2010.05.027.
52. Saprina T., Khlusov I., Borodulina A. Change of properties of mononuclear leukocytes at patients with an osteogenesis imperfecta after operative treatment with using nanosized hydroxylapatite coatings. *Bone*. 2010; 46 (Suppl. 1): S69–70.
53. Lutolf M.P., Gilbert P.M., Blau H.M. Designing materials to direct stem-cell fate. *Nature*. 2009; 462: 433–441. DOI: 10.1038/nature08602.
54. Metallo C.M., Mohr J.C., Detzel C.J., de Pablo J.J., Van Wie B.J., Palecek S.P. Engineering the stem cell microenvironment. *Biotechnol. Prog.* 2007; 23: 18–23. DOI: 10.1021/bp060350a.
55. Saha K., Pollock J.F., Schaffer D.V., Healy K.E. Designing synthetic materials to control stem cell phenotype. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2007; 11: 381–387. DOI: 10.1016/j.cbpa.2007.05.030.
56. Kobel S., Lutolf M.P. Biomaterials meet microfluidics: building the next generation of artificial niches. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2011; 22 (5): 690–697. DOI: 10.1016/j.copbio.2011.07.001.
57. Dawson E., Mapili G., Erickson K., Taqvi S., Roy K. Biomaterials for stem cell differentiation. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2008; 60: 215–228. DOI: 10.1016/j.addr.2007.08.037.
58. Ponsonnet L., Reybier K., Jaffrezic N., Comte V., Lagneau C., Lissac M., Martelet C. Relationship between surface properties (roughness, wettability) of titanium and titanium alloys and cell behavior. *Mater. Sci. Eng. C*. 2003; 23 (4): 551–560. DOI: 10.1016/S0928-4931(03)00033-X.
59. Ueshima M., Tanaka S., Nakamura S., Yamashita K. Manipulation of bacterial adhesion and proliferation by surface charges of electrically polarized Hydroxyapatite. *J. Biomed. Mater. Res.* 2002; 60: 578–584. DOI: 10.1002/jbm.10113.
60. Dekhtyar Yu., Dvornichenko M.V., Karlov A.V., Khlusov I.A., Polyaka N., Sammons R., Zaytsev K.V. Electrically functionalized hydroxyapatite and calcium

- phosphate surfaces to enhance immobilization and proliferation of osteoblasts *in vitro* and modulate osteogenesis *in vivo*. *IFMBE Proc.* 2009; 25/10: 245–248. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-03900-3\\_70](https://doi.org/10.1007/978-3-642-03900-3_70).
61. Martinez E., Engel E., Planell J.A., Samitier J. Effects of artificial micro- and nano-structured surfaces on cell behaviour. *Ann. Anat.* 2009; 191: 126–135. DOI: 10.1016/j.aanat.2008.05.006.
  62. Yu L.M.Y., Leipzig N.D., Shoichet M.S. Promoting neuron adhesion and growth. *Materials Today.* 2008; 11: 36–43. DOI: 10.1016/S1369-7021(08)70088-9.
  63. Bershadsky A.D., Balaban N.Q., Geiger B. Adhesion-dependent cell mechanosensitivity. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2003; 19: 677–695. DOI: 10.1146/annurev.cellbio.19.111301.153011.
  64. Discher D.E., Janmey P.A., Wang Y.L. Tissue cells feel and respond to the stiffness of their substrate. *Science.* 2005; 310: 1139–1143. DOI: 10.1126/science.1116995.
  65. Tomasek J.J., Gabbiani G., Hinz B., Chaponnier C., Brown R.A. Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodelling. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2002; 3: 349–363. DOI: 10.1038/nrm809.
  66. Engler A.J., Sen S., Sweeney H.L., Discher D.E. Matrix elasticity directs stem cell lineage specification. *Cell.* 2006; 126 (4): 677–689. DOI: 10.1016/j.cell.2006.06.044.
  67. Parmar K., Mauch P., Vergilio J.A., Sackstein R., Down J.D. Distribution of hematopoietic stem cells in the bone marrow according to regional hypoxia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007; 104 (13): 5431–5436. DOI: 10.1073/pnas.0701152104.
  68. McBeath R., Pirone D.M., Nelson C.M., Bhadriraju K., Chen C.S. Cell shape, cytoskeletal tension, and RhoA regulate stem cell lineage commitment. *Dev. Cell.* 2004; 6 (4): 483–495.
  69. Gauthier O., Bouler J.-M., Aguado E., Pilet P., Daculsi G. Macroporous biphasic calcium phosphate ceramics: influence macropore diameter and macroporosity percentage on bone ingrowth. *Biomaterials.* 1998; 19 (1-3): 133–139. DOI: 10.1016/S0142-9612(97)00180-4.
  70. Sous M., Bareille R., Rouais F., Clement D., Amedee J., Dupuy B. Cellular biocompatibility and resistance to compression of macroporous beta-tricalcium phosphate ceramics. *Biomaterials.* 1998; 19: 2147–2153. DOI: 10.1016/S0142-9612(98)00118-5.
  71. Sasaki D., Shimizu T., Masuda S., Kobayashi J., Itoga K., Tsuda Y., Yamashita J.K., Yamato M., Okano T. Mass preparation of size-controlled mouse embryonic stem cell aggregates and induction of cardiac differentiation by cell patterning method. *Biomaterials.* 2009; 30 (26): 4384–4389. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2009.05.003.
  72. Peerani R., Rao B.M., Bauwens C., Yin T., Wood G.A., Nagy A., Kumacheva E., Zandstra P.W. Niche-mediated control of human embryonic stem cell self-renewal and differentiation. *EMBO J.* 2007; 26 (22): 4744–4755. DOI: 10.1038/sj.emboj.7601896.
  73. de Barros A.P.D.N., Takiya C.M., Garzoni L.R., Leal-Ferreira M.L., Dutra H.S., Chiarini L.B., Meirelles M.N., Borojevic R., Rossi M.I.D. Osteoblasts and bone marrow mesenchymal stromal cells control hematopoietic stem cell migration and proliferation in 3D *in vitro* model. *PLoS One.* 2010; 5 (2): e9093–9111. DOI: 10.1371/journal.pone.0009093.
  74. Curtis A.S.G., Wilkinson C. Topographical control of cells. *Biomaterials.* 1998; 18: 1573–1583.
  75. Meyer U., Buchter A., Wiesmann H.P., Joos U., Jones D.B. Basic reactions of osteoblasts on structured material surface. *Eur. Cells Mat.* 2005; 9: 39–49.
  76. Yim E.K., Pang S.W., Leong K.W. Synthetic nanostructures inducing differentiation of human mesenchymal stem cells into neuronal lineage. *Exp. Cell Res.* 2007; 313 (9): 1820–1829. DOI: 10.1016/j.yexcr.2007.02.031.
  77. Jing D., Fonseca A.-V., Alakel N., Fierro F.A., Muller K., Bornhauser M., Ehninger G., Corbeil D., Ordemann R. Hematopoietic stem cells in co-culture with mesenchymal stromal cells – modeling the niche compartments *in vitro*. *Haematologica.* 2010; 95: 542–550. DOI: 10.3324/haematol.2009.010736.
  78. Klein C., de Groot K., Chen W., Li Y., Zhang X. Osseous substance formation induced in porous calcium phosphate ceramics in soft tissues. *Biomaterials.* 1994; 15: 31–34. DOI: 10.1016/0142-9612(94)90193-7.
  79. Huang J.L., Yoo J.U., Goldberg V.M. Orthopaedic applications of stem cells. In: Blau H., Melton D., Moore M. Eds. Handbook of stem cells. V. 2. New York: Elsevier Inc., 2004: 773–784. DOI: 10.1016/B978-012436643-5/50160-7.
  80. Gattazzo F., Urciuolo A., Bonaldo P. Extracellular matrix: a dynamic microenvironment for stem cell niche. *Biochim. Biophys. Acta.* 2014; 1840 (8): 2506–2519. DOI: 10.1016/j.bbagen.2014.01.010.
  81. Asada N., Takeishi S., Frenette P.S. Complexity of bone marrow hematopoietic stem cell niche. *Int. J. Hematol.* 2017; 106 (1): 45–54. DOI: 10.1007/s12185-017-2262-9.

Поступила в редакцию 18.04.2018

Подписана в печать 15.05.2018

**Хлусов Игорь Альбертович**, д-р мед. наук, профессор, кафедра морфологии и общей патологии, СибГМУ; ст. науч. сотрудник, НИ ТГУ, г. Томск; профессор-исследователь, БФУ им. И. Канта, г. Калининград. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3465-8452>.

**Литвинова Лариса Сергеевна**, д-р мед. наук, зав. базовой лабораторией иммунологии и клеточных биотехнологий, БФУ им. И. Канта, г. Калининград. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5231-6910>.

**Юрова Кристина Алексеевна**, канд. мед. наук, науч. сотрудник, базовая лаборатория иммунологии и клеточных биотехнологий, БФУ им. И. Канта, г. Калининград. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6146-3330>.

Мелашенко Елена Сергеевна, аспирант, лаборант, базовая лаборатория иммунологии и клеточных биотехнологий, БФУ им. И. Канта, г. Калининград. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8987-0664>.

Хазиахматова Ольга Геннадьевна, канд. биол. наук, науч. сотрудник, базовая лаборатория иммунологии и клеточных биотехнологий, БФУ им. И. Канта, г. Калининград. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5525-3529>.

Шуплецова Валерия Владимировна, канд. биол. наук, науч. сотрудник, базовая лаборатория иммунологии и клеточных биотехнологий, БФУ им. И. Канта, г. Калининград.

Хлусова Марина Юрьевна, канд. мед. наук, доцент, кафедра патофизиологии, СибГМУ, г. Томск. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9583-5358>.

✉ Хлусов Игорь Альбертович, e-mail: [khlusov63@mail.ru](mailto:khlusov63@mail.ru).

УДК 602.6/.9

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2018-3-217-228>

For citation: Khlusov I.A., Litvinova L.S., Yurova K.A., Melashchenko E.S., Khaziakhmatova O.G., Shupletsova V.V., Khlusova M.Yu. Modeling of the mesenchymal stem cell microenvironment as a prospective approach to tissue bioengineering and regenerative medicine (a short review). *Bulletin of Siberian Medicine*. 2018; 17 (3): 217–228.

## Modeling of the mesenchymal stem cell microenvironment as a prospective approach to tissue bioengineering and regenerative medicine (a short review)

Khlusov I.A.<sup>1,2,3</sup>, Litvinova L.S.<sup>3</sup>, Yurova K.A.<sup>3</sup>, Melashchenko E.S.<sup>3</sup>, Khaziakhmatova O.G.<sup>3</sup>, Shupletsova V.V.<sup>3</sup>, Khlusova M.Yu.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Siberian State Medical University (SSMU)*

2, Moscow Tract, Tomsk, 634050, Russian Federation

<sup>2</sup> *National Research Tomsk State University (NR TSU)*

36, Lenina Av., Tomsk, 634050, Russian Federation

<sup>3</sup> *Immanuel Kant Baltic Federal University (BFU)*

14, Nevskogo Str., Kaliningrad, 236041, Russian Federation

### ABSTRACT

One of the promising areas is the design and modification of materials for control over the fate of multipotent mesenchymal stromal cells (MMSCs) that will allow stroma of various human and animal organs and tissues to be constructed. However, the discussion about the existence and functioning of microenvironment for the MMSCs is just beginning to develop. The design of artificial materials that are able to reproduce biomimetically the cellular and tissue microenvironment and based on ideas and main elements borrowed from wildlife is current direction in a development of medical materials technology and tissue bioengineering. Scaffold technology is a promising experimental approach to simulate the properties of natural microenvironment of stem cells. Our aim is a short review of key elements of MMSC microterritories, its advanced investigations and the attempts of modeling in application to tissue bioengineering and regenerative medicine.

**Key words:** stem cells, microenvironment, extracellular matrix, biomaterials, bone, bioengineering.

### CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

### SOURCE OF FINANCING

This investigation was supported by the Federal Target Program of the Ministry of Education and Science of the

Russian Federation (agreement 14.575.21.0164, ID number RFMEFI57517X0164) “Research and innovations in priority

areas of development of Russian scientific and technological complex for 2014–2020”.

Received 18.04.2018

Accepted 15.05.2018

**Khlusov Igor A.**, DM, Professor, Department of Morphology and General Pathology, SSMU; NR TSU, Tomsk; Immanuel Kant BFU, Kaliningrad, Russian Federation. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3465-8452>.

**Litvinova Larisa S.**, DM, Head of Base Laboratory Immunology and Cell Biotechnology, Immanuel Kant BFU, Kaliningrad, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5231-6910>.

**Yurova Kristina A.**, PhD, Researcher, Base Laboratory Immunology and Cell Biotechnology, Immanuel Kant BFU, Kaliningrad, Russian Federation. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6146-3330>.

**Melashchenko Elena S.**, Laboratory Assistant, Base Laboratory Immunology and Cell Biotechnology, Immanuel Kant BFU, Kaliningrad, Russian Federation. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8987-0664>.

**Khaziakhmatova Olga G.**, PhD, Researcher, Base Laboratory Immunology and Cell Biotechnology, Immanuel Kant BFU, Kaliningrad, Russian Federation. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5525-3529>.

**Shupletsova Valeria V.**, PhD, Researcher, Laboratory Immunology and Cell Biotechnology, Immanuel Kant BFU, Kaliningrad, Russian Federation.

**Khlusova Marina Yu.**, PhD, Assistant Professor, Department of Pathophysiology, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9583-5358>.

(✉) **Khlusov Igor A.**, e-mail: [khlusov63@mail.ru](mailto:khlusov63@mail.ru).