



УДК 211.8 + 025.1+61.617  
ББК 78.34+51.1

## ИННОВАЦИОННЫЕ ПОДХОДЫ К ОПТИМИЗАЦИИ СКАФФОЛД-ТЕХНОЛОГИЙ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА В ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ СУСТАВНОГО ХРЯЩА

**Новочадов Валерий Валерьевич**

Доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой биоинженерии и биоинформатики  
Волгоградского государственного университета  
biobio@volsu.ru, novovv@rambler.ru  
Проспект Университетский, 100, 400062 г. Волгоград, Российская Федерация

**Семенов Павел Сергеевич**

Аспирант кафедры биоинженерии и биоинформатики  
Волгоградского государственного университета  
biobio@volsu.ru  
Проспект Университетский, 100, 400062 г. Волгоград, Российская Федерация

**Лябин Михаил Павлович**

Кандидат химических наук, доцент кафедры биоинженерии и биоинформатики  
Волгоградского государственного университета  
biobio@volsu.ru  
Проспект Университетский, 100, 400062 г. Волгоград, Российская Федерация

**Аннотация.** На основе аналитического обзора новейшей зарубежной литературы и собственных экспериментов представлены основные инновационные направления использования хитозана для тканевой инженерии суставного хряща.

**Ключевые слова:** хитозан, суставной хрящ, тканевая инженерия, скаффолды, наноматериалы, нанотехнологии.

Высокая потребность в развитии био-медицинских технологий восстановления поврежденного суставного хряща определяется хорошо очерченным комплексом социально-экономических, медицинских и общебиологических факторов. Во-первых, неуклонный рост продолжительности жизни в развитых странах сопровождается увеличением доли лиц с активным образом жизни среди пожилых. Как следствие, параллельно повышается частота поражения суставов и потребность в высоком качестве жизни даже при наличии заболевания (возможность перемещения в многоэтажных зданиях, вожде-

ния автомобиля, работы на приусадебном участке, туристических поездок и т. п.). В дополнение к дегенеративным изменениям суставов, специалисты указывают на рост числа травм крупных суставов в связи с экспансией технологий во все сферы профессиональной деятельности и быта, а также как результат экстремизма [6; 16]. Во-вторых, налицо явный прогресс материаловедения и медицинской техники, позволивший перейти к преимущественно малоинвазивным артроскопическим технологиям лечения травм и хронических заболеваний суставов. Наконец, сам по себе объект вмешатель-

ства – суставной хрящ, обладает исходно низкой способностью к восстановлению, так что в большинстве случаев при лечении необходимо замещать утраченные структуры и функции суставного хряща и, одновременно, стимулировать собственные клетки к ремоделированию зоны замещения дефектов в полноценную хрящевую ткань [2; 6; 35].

«Золотым стандартом» восстановления поврежденного хряща в настоящее время считается аутогенная хондропластика, но этот классический подход имеет ряд неустраняемых ограничений, недостатков, и не обеспечивает в итоге адекватного восстановления полноценной функции сустава на длительный срок. Большинство специалистов в области регенеративной медицины понимают, что следующим лидером в данной области уже в ближайшее десятилетие станут тканеинженерные технологии [4; 20; 22].

Сущность тканевой инженерии суставов состоит в разработке и изготовлении биоинженерных каркасов (скаффолдов) и последующей их имплантации пациенту (в бесклеточном варианте или предварительно заселенных необходимым пулом клеток) с целью замещения дефекта и стимуляции регенерации поврежденной трехмерной структуры ткани. Ключевая проблема заключается в обеспечении последовательного и полного ремоделирования тканеинженерной конструкции в собственный хрящ. Это требует предсказуемых управляющих воздействий на процессы заселения, пролиферации, дифференцировки и адекватной фенотипической экспрессии клеток в веществе скаффолда и будущего матрикса собственного хряща. Одним из ключевых подходов к такому управлению является планирование и изготовление скаффолда с заранее заданным комплексом этих свойств [2; 19; 26].

На сегодняшний день имеется достаточно широкий спектр материалов, пригодных для изготовления скаффолдов. Основными требованиями, которые предъявляются к этим материалам, являются: отсутствие цитотоксичности, воспалительного и иммунного ответа на материал; поддержание адгезии, фиксации, пролиферации и дифференцировки клеток; биорезорбируемость обычными метаболическими путями; наличие способностей к самовос-

становлению, изменению строения и свойств в ответ на факторы окружающей среды, включая механические нагрузки [20; 22; 26; 35].

Одним из перспективных натуральных материалов, получающих все большее признание при формировании тканеинженерных конструкций и обладающим большинством из вышеперечисленных свойств, является модифицированный хондроитинсульфат (хитозан) – деацетилированная форма широко распространенного в природе полимера хитина.

### Цель работы

На основе аналитического обзора, систематизации современной мировой литературы и собственных экспериментальных данных обосновать инновационный тренд в использовании хитозана для тканевой инженерии суставного хряща.

1. Достоинства и критические точки развития скаффолд-технологий на основе хитозана в тканевой инженерии хряща.

Использование хитозана в качестве материала в регенераторной биомедицине было документировано выходом в свет статьи, написанной группой итальянских ученых под руководством R. Muzzarelli и опубликованной в журнале «Biomaterials» в мае 1988 года. В течение последующих 15 лет эти исследователи с успехом применили хитозановые скаффолды для замещения дефектов твердой мозговой оболочки, раневых поверхностей и волокнистого хряща, отметив последующее полноценное морфологическое восстановление дефектов без каких-либо функциональных нарушений. Авторы считают, что начало применения хитозана для восстановления утраченных опорных тканей открыло новую веху в тканевой инженерии [5].

Доступность сырья для получения хитозана (экзоскелет членистоногих, грибы) и легкость улучшения его физико-химических свойств с помощью энзиматической обработки делают хитозан весьма перспективной основой для конструкции современных скаффолдов. Хитозан биомиметичен собственному матриксу хряща, нетоксичен, обладает полной биосовместимостью, биорезорбируемостью и умеренными антибактериальными свойствами. В эксперименте показаны выраженные хонд-

ро- и остеоиндуктивные эффекты трехмерно организованного хитозана [9; 11; 13; 34].

Скаффолды из хитозана обладают высокой способностью индуцировать клеточную миграцию, адгезию, пролиферацию и индукцию необходимого хондрального или остеогенного фенотипа, в результате чего обеспечивается интенсивное ремоделирование костной и хрящевой ткани, при этом не активируется рассасывание окружающих тканей [31; 32]. Хитозан нашел применение в хирургической и ортопедической стоматологии при лечении переломов, дистракционном остеогенезе, лечении остеомиелита и остеопороза, для чего был введен в состав кальций-фосфатных, сульфатных цементов, паст с гидроксиапатитом и т. п. В челюстно-лицевой имплантологии при покрытии титановых имплантатов хитозан уменьшал выраженность реакции окружающих тканей на операцию и способствовал ускоренной остеointegrации имплантатов [9; 32].

Не менее важной характеристикой при создании скаффолдов, успешно достигаемой при использовании хитозана, является реализация трехмерной (3D) пористой структуры с определенным размером пор и толщиной перегородок между ними. Эмпирически установлено, что для восстановления хрящевой ткани требуются величины пористости порядка 80–85 %, диаметром пор порядка 150–400 мкм и толщиной перегородок между ними не менее 50–70 мкм. Это необходи-

мо для обеспечения определенной прочности, высокой способности к адгезии клеток и, одновременно, возможности транспорта газов и метаболитов во вновь образующихся тканях [11; 13; 22].

Изначально высокая вязкость растворов хитозана позволяет использовать различные методы создания пористых скаффолдов, начиная от лиофильного высушивания, заканчивая вспениванием газами, пузыри которых формируют стабильные поры диаметром до 500 мкм. Твердо-упругие свойства некоторых модификаций хитозана, предлагаемых к использованию в тканевой инженерии приближаются к значениям, свойственным губчатой кости, и способны выдерживать компрессионную нагрузку порядка 75 МПа при размерах пор порядка 250–500 мкм [9; 25].

Многочисленность различных подходов, использованных специалистами для повышения эффективности скаффолд-технологий на основе хитозана, во-первых, выводит его в линейку лидирующих материалов в этой части тканевой инженерии. Во-вторых, анализ этих публикаций, позволяет выделить те критические моменты, на которых сосредоточены усилия по развитию тканеинженерных технологий. Эти процессы представлены на схеме (рис. 1), а часть модификаций, активно развивающаяся в настоящее время, в том числе и авторами настоящей работы, будет детальнее изложена далее.

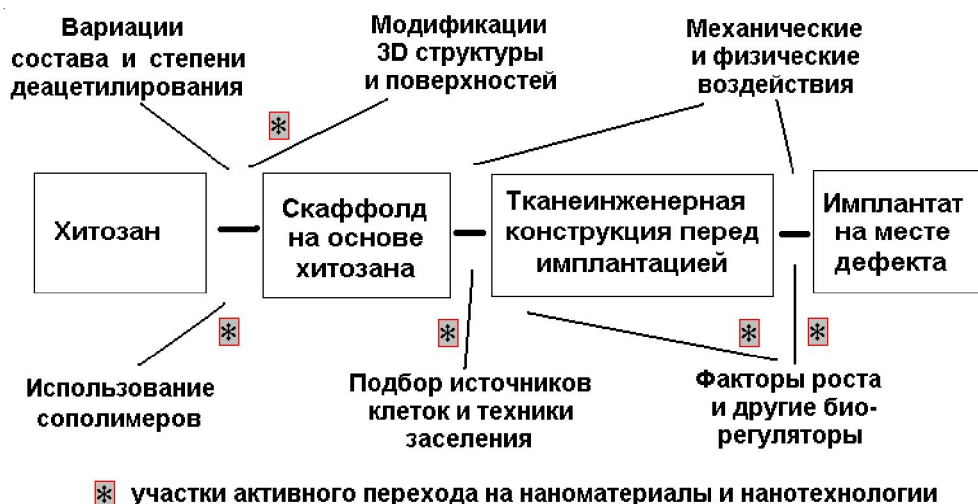


Рис. 1. Критические процессы, влияющие на итоговое качество скаффолд-технологий при восстановлении поврежденного суставного хряща

Наиболее активно усилия исследователей в настоящее время сосредоточены на модернизациях скаффолд-технологий на основе хитозана за счет варьирования сополимеров, перехода на получение наноструктурированных продуктов и подключения депо факторов роста.

## 2. Модификации на этапе получения хитозана. Сополимеризация

Важным свойством, существенно расширяющим возможные сферы биоинженерного применения хитозана, является его химическая активность, выражающаяся в возможности проводить различные модификации полимера с широким спектром биологически активных компонентов как органического, так и неорганического состава. Хитозан хорошо сополимеризуется с органическими поликислотами, альгинатом, полигликолями, желатином, белками, являющимися хорошо изученными материалами для изготовления скаффолдов. Необходимо отметить, что при взаимодействии хитозана с модифицирующими агентами его биологически активные свойства не только не теряются, но и в ряде случаев усиливаются [9; 11; 16; 32].

Хитозан исходно обладает умеренной антимикробной активностью, связанной с наличием активных центров связывания поверхностных токсинов, антигенов бактерий и влияния на другие компоненты их клеточной стенки. Эти свойства можно целенаправленно усиливать за счет сополимеризации с ацильными остатками органических кислот, лигандами различных органических антисептиков, металлоорганическими соединениями (Au, Ag, Cu, Ti, Pt) и поверхностно-активными веществами [5; 26; 34].

Хитозан-полилактидный скаффолд был сополимеризован с микросферами из амида полимолочной кислоты в гексан-диамин-пропанол. Для улучшения смачиваемости и повышения клеточной совместимости скаффолда без существенного изменения его физических свойств и образования качественной хрящевой ткани было предложено модифицировать поверхность хитозана с помощью пористого эластомера из поли-L-лактид-капролактона [18; 22].

В исследовании [28] показано, что в тканевой инженерии хряща шелк фибрин – хитозановые скаффолды могут быть достойной альтернативой подобным синтетическим материалам.

Группой ученых была предпринята попытка [8] оптимизации состава лиофилизированного композитного скаффолда хитозан-гиалуриновая кислота. Показано, что скаффолд не является цитотоксичным и способствует клеточной адгезии.

Другой группой исследователей была определена [17] степень влияния на хондрогенез из мезенхимальных стволовых клеток, культивируемых на губчатом хитозановом скаффолде, включений гиалуриновой кислоты с различной молекулярной массой.

Создание группой исследователей гелевого скаффолда на основе хитозана позволило получить полимер жидкий в обычных условиях, но принимающий форму золя при температурах близких к температуре тела. Такое стало возможным после создания композита хитозан – глицерофосфата натрия – гидроксиэтилцеллюлоза. Показано, что хондроциты в реконструированном хряще способны не только выжить, но и сохранить свою способность секретировать матрикс [30].

В работе [24] проанализированы процессы, происходящие в хряще и субхондральной зоне кости после ремоделирования микродефектов с применением имплантата на основе композиции хитозан - глицерофосфат - цельная кровь. В течение длительного времени в зоне ремоделирования наблюдалось большое количество остеокластов, костные балки при этом были структурно интегрированы.

Композитную матрицу хитозан-полибутилен-сукцинат получали путем прессования с последующим выщелачиванием [10]. Таким образом, были получены матрицы различной пористости с переменным размером пор.

## 3. Изготовление наноструктурированных скаффолдов

В последнее десятилетие для потребностей тканевой инженерии и регенеративной медицины было разработано множество раз-

личных методов изготовления трехмерных биомиметических скаффолдов, в том числе электроспиннинг, фазовая сепарация, сублимационная сушка и самосборка [22].

Принцип техники электроспиннинга состоит в том, что под действием высокого напряжения в капиллярных трубках, заполненных вязким раствором полимера, формируются силы отталкивания, инициирующие струи истечения из капилляров. Сохранение сил отталкивания между струями в итоге приводит к образованию тончайших (наноразмерных) нитей полимера, которые собираются в специальном коллекторе [22]. При этом толщина нитей может меняться за счет варьирования вязкости, электропроводности и поверхностного натяжения раствора, а также технологических условий (гидростатическое давление в капиллярной трубке, напряженность электрического поля, расстояние между зондом и коллектором) [33].

Фазовая сепарация может быть индуцирована термически или техникой осаждения, и используется для изготовления пористых мембран или вспененных материалов. По сравнению с электроспиннингом, фазовая сепарация обладает лучшим потенциалом для изготовления трехмерных нановолоконных скаффолдов с более равномерной пористой структурой [26; 30].

Сублимационная сушка является составной частью технологии по преобразованию растворимых лабильных материалов в достаточно твердые стабильные структу-

ры, первоначально в пищевой индустрии, фармацевтике и энзимных производствах. Данная технология (лиофилизация) включает в себя три основных этапа: замораживание раствора при достаточно низкой температуре (порядка  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ ); перенос замороженных образцов в камеру, где давление снижается до несколько миллибар. Часть воды удаляется на этом этапе (прямая сублимация); но большинство воды удаляется при десорбции на третьем этапе окончательной сушки [14; 27].

#### 4. Использование факторов роста

Особое место в создании скаффолдов на основе хитозана для ремоделирования и репарации хряща занимают биологически активные добавки, способствующие адгезии и пролиферации хондроцитов [12; 22].

Известно, что такое мощное биологически активное вещество как инсулин вызывает хондральную дифференциацию. В работе [23] уделено внимание хондрогенной дифференциации, и развитию клеточных систем, которые обеспечивают синтез биомолекул, для её стимуляции. Для этого различные формы инсулина добавлялись в хитозановый скаффолд используемый в качестве потенциальной модельной системы для хряща и хрящевых тканей. Показано, что доза инсулина в системе (5 %) является наиболее эффективной в стимуляции хондрогенной дифференциации.



Рис. 2. Внешний вид скаффолда из пористого хитозана

Имеются исследования [21], демонстрирующие регенерацию хряща в гибридных скаффолдах состоящих из полиэтиленоксида и хитозана с добавлением пептида CDPGYIGSR. Поры, средний диаметр которых составлял около 200–250 мкм, были связаны между собой и равномерно распределены. Высокий процент полиэтиленоксида в матрице способствовал увеличению прочности стенок пор. Также доказано, что данный пептид способствует адгезии хондроцитов и ускорению их пролиферации, помимо этого добавка данного пептида способствует синтезу коллагена 2 типа.

Крайне полезным свойством суспензий хитозана оказалась способность оставаться жидкими при комнатных температурах и переходить в фазу геля при температуре тела. Единственная клиническая технология коммерческого препарата на основе хитозана, BST-CarGel (Piramal Healthcare, Canada), проходит клинические испытания в Северной Америке [7; 25]. В настоящее время завершаются клинические испытания препарата в США и ряде стран Европейского Союза [30]. Условием его применения является смешивание с кровяным сгустком и сочетание с техникой костномозговой стимуляции полнослойных дефектов суставного хряща [21].

Результаты собственных исследований.

Нами была предпринята попытка создания трехмерного скаффолда на основе хитозана. Хитин – исходное сырье для хитозана был получен из наружного скелета ракообразных рода *Pandalus*, путем промывки водопроводной водой, с последующей обработкой 10 %-ным раствором  $\text{NaHCO}_3$  в присутствии поверхностно-активных веществ ПАВ. После отстаивания проводилось повторное депротейрование, и отмывка готового продукта. После чего проводилась его деминерализация, заключительная промывка и сушка до воздушно-сухого состояния [3].

Хитозан получали путем проведения деацетилирования из хитина, предварительно измельченного до размеров 1–2×2–3 мм. Проведение процесса в условиях вакуума водоструйного насоса способствовало значительному снижению концентрации кислорода в реакционной зоне, наличие которого, как

известно, увеличивает степень деструкции хитина. Отфильтрованный хитозан представлял собой сильно гидратированный продукт с содержанием воды более 70 %. Для предотвращения ороговения, хитозан сушили в термостате при 35,0–40,0 °С до воздушно-сухого состояния.

Для оценки качества полученного хитозана были использованы показатели, заложенные в технические условия на пищевой хитозан (ТУ 9289-067-00472124-03): внешний вид, цвет, вкус, запах.

Пористые 3D-матрицы на основе хитозана были созданы с помощью оригинального метода замораживания-высушивания [1]. По 10 стерильных матриц были созданы из оригинального хитозана и из хитозана производства ЗАО «Биопрогресс» (Россия).

Проверка свойств матриц *in vivo* была осуществлена в экспериментах с использованием 24 белых крыс-самцов линии Wistar массой от 180 г до 240 г. Протокол экспериментов соответствовал этическим нормам, изложенным в «Международном кодексе медицинской этики» (1994), Правилах лабораторной практики (GLP), и Директивах Европейского сообщества 86/609ЕЕС. Для наркоза и выведения животных из эксперимента использовали внутримышечные инъекции Золетила.

В первой серии экспериментов стерильные скаффолды размером 5×5 мм были в асептических условиях подкожно вшиты в мягкие ткани области холки 10 крысам, во второй серии – более мелкие фрагменты скаффолда имплантированы в области искусственных дефектов бедренной кости (каналы диаметром 1,5 мм и глубиной 3 мм). Участки ткани вместе с имплантатами удаляли через 4 и 8 недель после постановки в тех же условиях.

При изъятии образцов мягких тканей оценивали подвижность регенератов *in situ*, состояние окружающей клетчатки, наличие питающих скаффолд сосудов, выраженность спаечного процесса и степень биодеградации скаффолдов. В области замещения костных дефектов обращали внимание на степень остеоинтеграции, полноту закрытия дефекта, плотность регенерата. Материал фиксировали в формалине и после быстрой про-

Таблица 1

**Физико-химические свойства хитозана**

	Норма по ТУ	Препарат
Массовая доля влаги, %	Не более 10,0	9,4
pH 1%-ного раствора в 2 %-ной CH <sub>3</sub> COOH	Не более 7,5	3,85
Степень деацетилирования, %	Не менее 80 %	(93 %)

Таблица 2

**Объемные доли тканевых элементов в регенерате на месте имплантации крысам матриц на основе хитозана (% , M ± m)**

Показатель Группа	Контроль	Сроки эксперимента	
		4 недели	8 недель
Регенераты при гетеротопической имплантации			
Фрагменты хитозана	0	39,8 ± 2,7	8,3 ± 0,4 *
Хрящевая ткань	0	14,8 ± 1,0 *	53,7 ± 4,1 *
Соединительная ткань	45,5 ± 2,9	34,0 ± 2,6 *	31,2 ± 2,3 *
Сосуды	5,4 ± 2,9	11,4 ± 0,8 *	6,8 ± 2,9 *
Жировая ткань	49,1 ± 2,9	0	0
Регенераты при ортотопической имплантации			
Фрагменты хитозана	0	24,5 ± 1,4 *	5,7 ± 0,3 *
Хрящевая ткань	97,8 ± 4,1	45,9 ± 1,0 *	74,5 ± 6,1 *
Соединительная ткань	2,2 ± 0,4	23,9 ± 1,8 *	16,9 ± 1,2 *
Сосуды	0	5,7 ± 0,4 *	2,9 ± 0,3 *

водки по спиртам и полного обезвоживания, через ксилол заключали в парафин. Парафиновые срезы толщиной 5–7 мкм после депарафинирования окрашивали гематоксилином и эозином, трехцветным методом по Массону, пикрофуксином по Ван-Гизону. Для видео документирования, качественного и количественного анализа микропрепаратов использовали аппаратно-компьютерный комплекс «Видеотест-Морфо» 3.0 (Россия) с привлечением возможностей программы Image J (США). В результате получены доказательства формирования полноценного хрящевого регенерата на месте хитозанового скаффолда (табл. 2).

Следующие этапы модификации тканеинженерных скаффолдов на основе хитозана предполагается вести по пути повышения биосовместимости и биодegradации хитозана, что потребует применение новых модифицирующих агентов и с привлечением возможностей

иммуногистохимических методов анализа тканевого ремоделирования.

**Заключение**

Таким образом, анализ современной мировой литературы и результаты собственных экспериментов показывают, что основными составляющими инновационного тренда использования хитозана для тканевой инженерии суставного хряща являются: модификация хитозанового скаффолда путем его сополимеризации с различными органическими соединениями; совершенствование методов изготовления трехмерных биомиметрических наноструктурированных хитозан-скаффолдов; интенсификация использования в процессе создания скаффолдов на основе хитозана с целью улучшения их вязкостно-прочностных, хондроиндуктивных и антибактериальных свойств биологически активных добавок.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лябин, М. П. Совершенствование технологии получения хитозана / М. П. Лябин, П. С. Семенов // Вестник Волгоградского государственного университета. Серия 11: Естественные науки. – 2011. – № 2 (2). – С. 17–22.
2. Маланин, Д. А. Восстановление поврежденных хряща в коленном суставе: монография / Д. А. Маланин, В. Б. Писарев, В. В. Новочадов. – Волгоград: Волгоградское научное изд-во, 2010. – 518 с.
3. Семенов, П. С. Анализ биодegradации in vivo тканевой бесклеточной матрицы на основе хитозана / П. С. Семенов // Вестник Волгоградского государственного университета. Серия 9: Труды молодых ученых. – 2012. – № 1 (12). – С. 54–57.
4. Getgood, A. Articular cartilage tissue engineering: today's research, tomorrow's practice? / A. Getgood, R. Brooks, L. Fortier, N. Rushton // J. Bone Joint Surg. Br. – 2009. – Vol. 91, № 5. – P. 565–576.
5. Kumar, M. N. Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives / M. N. Kumar, R. A. Muzzarelli, C. Muzzarelli et al. // Chem. Rev. – 2004. – Vol. 104, № 12. – P. 6017–6084.
6. Osch, G. J. van Cartilage repair: past and future - lessons for regenerative medicine / G. J. van Osch, M. Brittberg, J. E. Dennis [et al.] // J. Cell Mol. Med. – 2009. – Vol. 13, № 5. – P. 792–810.
7. Chen, J. P. Preparation and characterization of biomimetic silk fibroin/chitosan composite nanofibers by electrospinning for osteoblasts culture / J. P. Chen, S. H. Chen, G. J. Lai // Nanoscale Res. Lett. – 2012. – Vol. 7, № 1. – P. 170–178.
8. Chitosan, C. R. scaffolds containing hyaluronic acid for cartilage tissue engineering / C. R. Correia, L. S. Moreira-Teixeira, L. Moroni [et al.] // Tissue Eng. Part C. Methods. – 2011. – Vol. 17, № 7. – P. 717–730.
9. Abarrategi, A. Chitosan scaffolds for osteochondral tissue regeneration / A. Abarrategi, Y. Lypiz-Morales, V. Ramos [et al.] // J. Biomed. Mater. Res. A. – 2010. – Vol. 95, № 4. – P. 1132–1141.
10. Silva, A. M. L. da Chitosan-polyester-based scaffolds for cartilage tissue engineering: assessment of extracellular matrix formation / A. M. L. da Silva, A. Crawford, J. M. Mundy [et al.] // Acta Biomater. – 2010. – Vol. 6, № 3. – P. 1149–1157.
11. Di Martino, A. Chitosan: a versatile biopolymer for orthopaedic tissue-engineering / A. Di Martino, M. Sittinger, M. V. Risbud // Biomaterials. – 2005. – Vol. 26, № 30. – P. 5983–5990.
12. Elder, B. D. Systematic assessment of growth factor treatment on biochemical and biomechanical properties of engineered articular cartilage constructs / B. D. Elder, K. A. Athanasiou // Osteoarthritis Cartilage. – 2009. – Vol. 17, № 1. – P. 114–123.
13. Vord, P. J. Van der Evaluation of the biocompatibility of a chitosan scaffold in mice / P. J. Van der Vord, H. W. Matthew, S. P. DeSilva [et al.] // J. Biomed. Mater. Res. – 2002. – Vol. 59, № 3. – P. 585–590.
14. Visage, A. C. Le Fabrication of porous polysaccharide-based scaffolds using a combined freeze-drying/cross-linking process / A. C. Le Visage, C. Pouzet [et al.] // Acta Biomater. – 2010. – Vol. 6. – P. 3640–3648.
15. Biomater, J. Homogeneous chitosan/poly(L-lactide) composite scaffolds prepared by emulsion freeze-drying / X. F. Niu, X. M. Li, H. F. Liu [et al.] // J. Biomater. Sci. Polym. Ed. – 2012. – Vol. 23. – P. 391–404.
16. Hunziker, E. B. The elusive path to cartilage regeneration / E. B. Hunziker // Adv. Mater. – 2009. – Vol. 21, № 32–33. – P. 3419–3424.
17. Schwartz, Z. Hyaluronic acid and chondrogenesis of murine bone marrow mesenchymal stem cells in chitosan sponges / Z. Schwartz, D. J. Griffon, L. P. Fredericks [et al.] // Am. J. Vet. Res. – 2011. – Vol. 72, № 1. – P. 42–50.
18. Yang, Z. Improved mesenchymal stem cells attachment and in vitro cartilage tissue formation on chitosan-modified poly(L-lactide-co-epsilon-caprolactone) scaffold / Z. Yang, Y. Wu, C. Li [et al.] // Tissue Eng. Part A. – 2012. – Vol. 18. – P. 242–251.
19. Isla, N. de Introduction to tissue engineering and application for cartilage engineering / N. de Isla, C. Huselein, N. Jessel [et al.] // Biomed. Mater. Eng. – 2010. – Vol. 20, № 3. – P. 127–133.
20. Kerker, J. T. Cartilage repair: synthetics and scaffolds - basic science, surgical techniques, and clinical outcomes / J. T. Kerker, A. J. Leo, N. A. Sgaglione // Sports Med. Arthrosc. – 2008. – Vol. 16, № 4. – P. 208–216.
21. Kuo, Y. C. Surface modification with peptide for enhancing chondrocyte adhesion and cartilage regeneration in porous scaffolds / Y. C. Kuo, C. C. Wang // Colloids Surf. B. Biointerfaces. – 2011. – Vol. 84, № 1. – P. 63–70.
22. Lu, T. Techniques for fabrication and construction of three-dimensional scaffolds for tissue engineering / T. Lu, Y. Li, T. Chen // Int. J. Nanomedicine. – 2013. – Vol. 8. – P. 337–350.
23. Malafaya, P. B. The effect of insulin-loaded chitosan particle-aggregated scaffolds in chondrogenic differentiation / P. B. Malafaya, J. T. Oliveira, R. L. Reis // Tissue Eng. Part A. – 2010. – Vol. 16, № 2. – P. 735–747.
24. Marchand, C. Microdrilled cartilage defects treated with thrombin-solidified chitosan-blood implant regenerate a more hyaline, stable, and structurally integrated osteochondral unit compared to drilled controls / C. Marchand, G. Chen, C. Tran-Khanh [et al.] // Tissue Eng. Part A, 2012. – Vol. 18, № 5–6. – P. 508–519.



25. Muzzarelli, R. A. Biomedical exploitation of chitin and chitosan via mechano-chemical disassembly, electrospinning, dissolution in imidazolium ionic liquids, and supercritical drying / R. A. Muzzarelli // *Mar. Drugs*. – 2011. – Vol. 9, № 9. – P. 1510–1533.

26. O'Brien, F. J. Biomaterials and scaffolds for tissue engineering / F. J. O'Brien // *Mater. Today*. – 2011. – Vol. 14. – P. 88–95.

27. Pisano, R. Innovation in monitoring food freeze drying / R. Pisano, A. A. Barresi, D. Fissore // *Dry Technol.* – 2011. – Vol. 29. – P. 1920–1931.

28. Bhardwaj, N. Potential of 3-D tissue constructs engineered from bovine chondrocytes/silk fibroin-chitosan for in vitro cartilage tissue engineering / N. Bhardwaj, Q.T. Nguyen, A.C. Chen [et al.] // *Biomaterials*. – 2011. – Vol. 32, № 25. – P. 5773–5781.

29. Zhao, J. Preparation, structure and crystallinity of chitosan nano-fibers by a solid-liquid phase separation technique / J. Zhao, W. Han, H. Chen [et al.] // *Carbohydr. Polym.* – 2011. – Vol. 83. – P. 1541–1546.

30. Spiller, K. L. Hydrogels for the repair of articular cartilage defects / K. L. Spiller, S. A. Maher, A. M. Lowman // *Tissue Eng. Part B. Rev.* – 2011. – Vol. 17, № 4. – P. 281–299.

31. Shi, C. Therapeutic potential of chitosan and its derivatives in regenerative medicine / C. Shi, Y. Zhu, X. Ran [et al.] // *J. Surg. Res.* – 2006. – Vol. 133, № 2. – P. 185–192.

32. Venkatesan, J. Chitosan composites for bone tissue engineering – an overview / J. Venkatesan, S. K. Kim // *Mar. Drugs*. – 2010. – Vol. 8, № 8. – P. 2252–2266.

33. Wimpenny, I. Chondrogenic potential of electrospun nanofibres for cartilage tissue engineering / I. Wimpenny, N. Ashammakhi, Y. Yang // *J. Tissue Eng. Regen. Med.* – 2012. – Vol. 6. – P. 536–549.

34. Yang, T. L. Chitin-based materials in tissue engineering: applications in soft tissue and epithelial organ / T. L. Yang // *Int. J. Mol. Sci.* – 2011. – Vol. 12, № 3. – P. 1936–1963.

35. Zhang, L. The role of tissue engineering in articular cartilage repair and regeneration / L. Zhang, J. Hu, K. A. Athanasiou // *Crit Rev. Biomed. Eng.* – 2009. – Vol. 37, № 1–2. – P. 1–57.

## NEW APPROACHES TO OPTIMIZATION OF CHITOSAN-BASED SCAFFOLD TECHNOLOGIES IN CARTILAGE TISSUE ENGINEERING

**Novochadov Valery Valeryevich**

Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Bioengineering and Bioinformatics department,  
Volgograd State University  
biobio@volsu.ru, novovv@rambler.ru  
Prospect Universitetsky, 100, 400062 Volgograd, Russian Federation

**Semenov Pavel Sergeevich**

Post-graduate student of the Bioengineering and Bioinformatics department  
Volgograd State University  
biobio@volsu.ru  
Prospect Universitetsky, 100, 400062 Volgograd, Russian Federation

**Lyabin Mikhail Pavlovich**

Candidate of chemical sciences, associate professor of bioengineering and bioinformatics  
Volgograd State University  
biobio@volsu.ru  
Prospect Universitetsky, 100, 400062 Volgograd, Russian Federation

**Abstract.** The main innovative ways of using chitosan for tissue engineering of articular cartilage are described based on an analytical review of the latest foreign literature and our own experiments.

**Key words:** chitosan, articular cartilage, the tissue engineering, scaffold, nano-materials, nano-technologies.