

УДК 612.433.441:611.71/72.018.4

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЯ ХОНДРО- И ОСТЕОГЕНЕЗА ПРИ ОСТЕОАРТРИТЕ И ПУТИ ИХ КОРРЕКЦИИ

А.Л. ТОРГОМЯН, М.Ю. САРОЯН

Ереванский Государственный Медицинский Университет (ЕГМУ), кафедра физиологии ул. Корьюна 2, Ереван, Армения

E-mail: adelinatorgomyan@yahoo.com

Исследования, посвященные проблеме регулирования процесса хондрогенеза и клеточной инженерии хрящевой ткани, в настоящее время остаются актуальными, учитывая степень возрастания распространенности остеодегенеративных ортопедических заболеваний. Был осуществлен анализ литературных данных посвященных изучению молекулярных изменений, развивающихся в хрящевой ткани при остеоартрите (ОА). По ключевым словам был произведен поиск в международных и отечественных базах данных. Отобрано 40 источников, подходящих по тематике. Были идентифицированы многие биологические регуляторы с анализом возможности их включения в процессы остео- и хондрогенеза. Изучение биомаркеров ОА, а также последующая регуляция хондрогенеза различными молекулами, является будущим в технике клеточной инженерии хрящевой ткани с целью восстановления хряща поврежденного ОА.

Ключевые слова: хондроциты, стволовые клетки, дифференцировка.

Исследования посвященные проблеме регулирования процесса хондрогенеза и клеточной инженерии хрящевой ткани, в настоящее время остаются актуальными, учитывая степень возрастания распространенности остеодегенеративных ортопедических заболеваний. Осуществлен анализ литературных данных посвященных изучению молекулярных изменений, развивающихся в хрящевой ткани при остеоартрите (ОА). По ключевым словам был произведен поиск в международных и отечественных базах данных. Отобрано 40 источника, подходящих по тематике. Были идентифицированы многие биологические регуляторы с анализом возможности их включения в процессы остео- и хондрогенеза.

Как известно, остеоартрит (ОА) является заболеванием сопровождающимся деградацией суставов, поражением суставного хряща и субхондральной костной ткани. Для заболевания свойственны боль, нарушение подвижности, деформация суставов. Установлено, что у 80 % населения к возрасту 65 лет обнаруживаются радиографические признаки ОА [1]. Медленное прогрессирование заболевания и продолжительный бессимптомный период создают определенные сложности ранней диагностики ОА. Так как единственным диагностическим методом является рентгенография, выявляющая уже глубокие поражения хрящевой ткани, то для ранней диагностики ОА возникает необходимость идентификации специфических биомаркеров, что значительно повысило бы эффективность консервативного фармакологического лечения данной патологии [2].

Несмотря на многочисленные исследования, механизмы развития патологических процессов при ОА пока до конца не выяснены. Межклеточное вещество хрящевой ткани в основном состоит из фибриллярных белков, включая коллаген, протеогликан и гиалуронан. Поскольку почти все его компоненты транспортируются внутриклеточными везикулярными транспортными системами, молекулы, которые обеспечивают перенос везикул, также важны для эндохондральной оссификации. Гиантин, кодируемый геном *Golgb1*, является фактором, обеспечивающим связывание пузырьков 1 (СОPI) и функционирует в цис-медиальных отделах Гольджи. Гиантин играет ключевую роль в координации синтеза агрекана, связывающего белка и коллаген XI типа в хондроцитах, и его потеря вызывает остеохондродисплазию с нарушением структуры данных компонентов [3]. При этом, внутриклеточными сигнальными факторами, которые передают различную информацию извне внутрь клетки являются *Rac1* и *Cdc42*, *Rho* семейства низко-

© А.Л. ТОРГОМЯН, М.Ю. САРОЯН, 2020

молекулярных G-белков. Они, контролируют различные функции, связанные с реорганизацией актинового цитоскелета: пролиферацию клеток, дифференцировку и апоптоз. Ras1 и Cdc42 играют совместную роль в регуляции развития костей [4]. Была также выявлена связь между Toll-like рецептором 4 (TLR4) и ОА в хрящевой ткани, субхондральной кости и синовиальной оболочке, что указывает на возможность использования препаратов, воздействующих на TLR4-специфическое изменение ОА. Так же предполагают, что R1-P1, новый ингибирующий пептид для FGFR1, который ослабляет дегенерацию суставного хряща у взрослых мышей является потенциально ведущей молекулой для лечения ОА [5].

Недавние исследования показали, что уровень различных, связанных с повреждением молекулярных структур (DAMP – Damage-associated molecular patterns), таких как HMGB1 (high-mobility group box 1), S100 белков и белков теплового шока (HSP – heat shock proteins), увеличивается при воспалительных заболеваниях, включая ОА [6]. DAMPs представляют собой эндогенные молекулы, которые высвобождаются из поврежденных или погибающих клеток и активируют неспецифический иммунный ответ, взаимодействуя с соответствующими рецепторами (PRR – pattern recognition receptors). Они обладают способностью как защищать организм, так и активировать развитие воспалительных реакций. Было также показано, что в клетках, подвергнутых растяжению был выявлен самый низкий уровень матричных протеогликанов. Было заметно уменьшено выделение COL2A1, Acan и SOX9 и увеличен уровень экспрессии COL1A1 [7].

Было установлено, что хондроциты синтезируют молекулы, которые являются потенциальными антигенами при воспалительных заболеваниях суставов. Так, хондроциты экспрессируют хрящевой специфический мембранный антиген (CH65), человеческий хрящевой гликопротеин-39 (HC gr-39), молекулу адгезии гиалуронана CD44, антиген-тимоцит-1 (Thy-1) – CD90, преобразователь сигналов – CD24, связанный с функцией лимфоцитов антиген-3 (LFA-3) – CD58 и трансмембранный белок типа I Tmp21. С другой стороны, они также могут оказывать иммунодепрессивное и иммуномодулирующее действие на иммунокомпетентные клетки. Изолированные хондроциты не вызывают эффективного аллогенного иммунного ответа *in vitro* и подавляют пролиферацию активированных Т-клеток, что связано с синтезом хондроцитами нескольких отрицательных регуляторов иммунного ответа. Они экспрессируют лиганд запрограммированной смерти (PD-L), хондромодулин-1 и индоламин 2,3-диокси-

геназу (IDO), молекулы, которые способствуют толерантности и подавляют иммунную систему [8].

Таким образом в ранней стадии ОА рентгенографические данные выявляют нормальное строение суставов, патология проявляется только при повышении уровня продуктов распада хряща или маркеров воспаления. При этом в качестве биохимического маркера заболевания может быть использовано вещество, дающее информацию о начале дегенеративных процессов и позволяющее определить стадию заболевания. Идеальные биомаркеры должны быть специфичны для суставов и выявляться в бессимптомный период заболевания. Таким образом, основной целью исследования биомаркеров, является диагностика ранней стадии ОА и предупреждение развития дегенеративных изменений. Для этого в настоящее время используют несколько биомаркеров, однако они имеют различный коэффициент эффективности. Для акселерации развития исследований биомаркеров со стороны Международной Ассоциации Исследования ОА (OARSI – Osteoarthritis Research Society International) была разработана классификация биомаркеров [9, 10].

В настоящее время более широкое применение нашли маркеры выявляющие разрушение Col II. Данный маркер нашел применение при диагностике ОА и ревматоидного артрита, так как является высокочувствительным детектором структурных изменений хряща. Повышение его уровня сочетается с синовитом и снижением минерализации костной ткани, что характерно для воспалительных артритов [11]. Кроме того, учитывая факт того, что деградация протеогликанов является признаком раннего ОА в экспериментальных моделях на животных, продукты разрушения агрекана могут быть информативными для ранней диагностики ОА. В частности, в результате разрушения агрекана агреканазой, выделяется ARGS неопитоп, который возможно выявить иммуноферментным анализом с использованием BC3-C2 антител в плазме крови, синовиальной жидкости и моче пациентов, страдающих ОА. При этом продукты распада агрекана AGG1 (G1-1H11) и AGG2 (6D6-G2) были использованы в комбинации с СТХ-II как индикатор дегенеративных изменений хряща при ОА коленного сустава [12]. Однако, костные маркеры могут быть эффективно использованы в комбинации с маркерами метаболизма хряща для определения ОА и с целью выявления степени эффективности его лечения. При исследовании связи уровня биомаркеров и ранними признаками ОА, интенсивности боли и воспаления сустава, было установлено, что соотношение uCTX-II (в моче)/СРП (в плазме) и уровень синовиального маркера

гиалуроновой кислоты (НА) повышались с началом заболевания [13].

Несколько биомаркеров: интерлейкины (IL)-1, IL-6, IL-8, IL-11, LIF (leukemia inhibitory factor), COMP (cartilage oligomeric matrix protein), остеокальцин и OP-1 (osteogenic protein-1) были выявлены в синовиальной жидкости пациентов страдающих ОА и ревматоидным артритом. Повышение уровня IL-11, LIF, и OP-1 указывает на более целесообразное их использование с целью мониторинга ОА, в то время, как активация IL-1, IL-6, IL-8, LIF, и OP-1 свидетельствует о ревматоидном артрите [14].

Кроме того, естественными индикаторами течения заболевания являются также ферменты разрушающие коллаген II типа и агрекан. Так, фибриллярный коллаген II типа вначале подвергается комбинированному воздействию ряда металлопротеиназ (MMP-1, -8, -13, и -14) затем разрушается MMP-2, -3 и -9. Вышеназванные биомаркеры были признаны индикаторами ОА коленного сустава, однако в некоторых случаях они были так же выявлены при ОА тазового сустава [15].

Таким образом, несмотря на исследования посвященные изучению биомаркеров ОА, до сих пор не предложен стандарт для диагностики стадий, мониторинга течения и прогноза патологических изменений при данном заболевании. Анализируя вышеизложенные данные, можно предположить, что развитие ОА зависит от метаболических изменений хондроцитов. Несмотря на общеизвестную клинику, поражение суставного хряща продолжает оставаться уникальной клинической проблемой, из-за плохой способности хряща к регенерации, что в значительной степени обусловлено аваскулярной природой хрящевой ткани. Современные методы клеточной терапии не обеспечивают получение гиалинового хряща, и остаются спорными, так как полученная ткань больше напоминает фиброзную. Отложение фиброзного хряща вместо гиалинового может привести к ухудшению прочности и быстрому снижению уровня активности. Таким образом, существует необходимость в более эффективных методах регенеративной терапии. По этой причине, исследование дифференцировки мезенхимных стволовых клеток (МСК) в хондрогенные или же культивация хондроцитов с последующей имплантацией полученной ткани в область хрящевых дефектов, имеет важное терапевтическое значение. Результаты показывают, что МСК взрослого человека (чМСК) обладают свойствами эмбриональной мезенхимы в формировании переходного, а также стабильного хряща. Это открывает потенциальные фармакологические стратегии регенерации суставного хряща

и в более широком смысле указывает на актуальность разработанных протоколов для контроля пролиферации и дифференцировки чМСК [16]. В процессе *In vitro* пролиферации и дифференцировки МСК необходимы соответствующие факторы роста. Так, одним из наиболее распространенных являются факторы роста фибробластов (FGFs), которые, являются положительными регуляторами хондрогенеза и принимают активное участие в течение всего процесса образования хрящевой ткани. Эффект воздействия FGF10 на апикальном эктодермальном гребне является результатом положительной обратной связи с FGF8. FGF2, 4 и 8 служат важными регуляторами проксимальной-дистального направления роста конечности, и FGF2 имеет дополнительную функцию активации МСК для последующей хондрогенной дифференцировки [17]. Последний эффект опосредован увеличением базальной экспрессии прохондрогенного фактора транскрипции Sox9 и инактивацией IGF-1 и TGF- β связи [18]. Было также доказано последовательное воздействие трех FGFs на прогрессирование дифференцировки и пролиферации хондроцитов: FGF2, FGF9 и FGF18 [19,20]. Учитывая взаимодействие FGF2 с TGF-1 и TGF- β 2, исследователи пытались выяснить влияние сочетания FGF2 с TGF- β 3. В настоящее время установлено, что FGF2 способен индуцировать дифференцировку хондроцитов и усиление пролиферации в присутствии TGF- β 3, однако данные эффекты сопровождаются ингибированием гипертрофии хондроцитов [21]. В дополнение к его взаимодействию с TGF- β , было доказано, что сочетание FGF2 с Wnt3a или в комбинации с фактором роста тромбоцитов (PDGF), инсулином и TGF- β 1 достаточно для поддержания долгосрочного культивирования полностью функциональной хрящевой ткани [22]. В то время как FGF2, оказывает значительное влияние на дифференцировку хондроцитов, FGF9 и FGF18 являются регуляторами ранней хондрогенной дифференциации, увеличения образования внеклеточного матрикса и терминальной гипертрофии хондроцитов [23]. FGF9 может выступать в роли как про-хондрогенного так и про-остеогенного фактора, в зависимости от уровня его экспрессии и популяции клеток, в которых он синтезируется [24]. Многофункциональность FGF9, как полагают, является результатом его способности повышать экспрессию других про-хондрогенных белков, таких как Sox9, Indian hedgehog (Ihh), и Col2a1, а также, про-остеогенных белков, таких как Col10a1 [25].

Другим фактором хондрогенеза является Sox9. Имеются результаты, указывающие на то, что коллаген может стимулировать экспрессию Sox9 и способствовать клеточной конденсации до хондроген-

неза. Вмешательства, направленные на изменения уровня Sox9, могут помочь улучшить процесс восстановления суставного хряща. Вместе SOX9-GLI автоматически регулируют и активируют или подавляют гены в пролиферирующих хондроцитах. При гипертрофии FOXA конкурирует с SOX9 и контроль над терминальной дифференцировкой переходит на факторы FOXA, RUNX, AP1 и MEF2 [26].

Необходимо отметить, что TGF- β и BMP, также имеют важное значение для нескольких стадий эмбрионального хондрогенеза [27]. Данные факторы часто используются для индукции хондрогенной дифференцировки МСК и пролиферации популяции хондроцитов. TGF- β также способствует терминальной пролиферации и последующей хондрогенной дифференцировке [28]. Данный сдвиг от пролиферации к дифференциации широко изучен как в условиях *in vivo* во время эмбрионального развития хряща, так и *in vitro* с использованием мезенхимных стволовых клеток [29]. Недавние исследования тканевой инженерии были сосредоточены на разработке подходящих молекулярных каркасов, обеспечивающих доставку TGF- β к поврежденному суставному хрящу *in vivo*, с целью индукции хондрогенной регенерации поврежденного хряща [30]. TGF- β /BMP в первую очередь активирует Smad-зависимые пути передачи сигнала в клетках-мишенях. Рецепторы TGF- β (I и II типа) фосфорилируют видо-специфические рецепторы-Smads (R-Smads). TGF-бета может также воздействовать через такие белки, как митоген активированные протеинкиназы (МАРК): p38, ERK и JNK в МСК, которые могут оказать свое воздействие от процессов конденсации, пролиферации до дифференциации [31].

Было также установлено участие Wnt в хондрогенезе, который играет важную роль в процессе миграции и конденсации хондрогенных клеток [32]. Wnt5a также был связан с клеточной миграцией и динамикой очаговой адгезии в эмбриональных фибробластах, но в отличие от молекулы Wnt5b, установлена его способность содействовать клеточной адгезии [33].

Другим морфогенетическим белком является Sonic Hedgehog (Shh), который играет важную роль в развивающихся конечностях. Хотя Shh в первую очередь известен своими морфогенетическими свойствами в развивающихся хрящах конечностей, он остается важным регулятором хондрогенеза у взрослых и, следовательно, привлекает внимание его относительно возможное терапевтическое воздействие. Shh сигнальный путь, наряду с BMP молекулами, является критически важным в начале хондрогенеза из-за его роли в определении дальнейшей судьбы

клеток. Так, например, относительное преобладание Shh или BMP сигнального механизма в пресомитной мезодерме определяет дальнейшую дифференцировку мезодермы либо в хондрогенную либо в латеральную пластинку [34].

Также, были выявлены гены, кодирующие биосинтез холестерина в хондроцитах, которые регулируются молекулами Hedgehog (Hh), а передача сигналов Hh в свою очередь, также регулируется внутриклеточным холестерином в хондроцитах, что указывает на кольцо обратной связи в процессе дифференцировки хондроцитов. Точная регуляция внутриклеточного биосинтеза необходима для гомеостаза хондроцитов и роста костей, и эти данные подтверждают фармакологическую модуляцию биосинтеза холестерина как терапию патологий хряща [35].

Indian Hedgehog (Ihh), другой член семейства морфогенетических белков, кодируется механочувствительным геном и служит в качестве регулятора как остеогенеза, так и хондрогенеза. Благодаря своей способности управлять как остеогенезом, так и хондрогенезом, экспрессия Ihh имеет решающее значение для преобладания хондрогенеза над остеогенезом. Хотя Ihh не считается одним из основных регуляторов хондрогенеза, исследования показывают, что в МСК он является столь же мощным индуктором хондрогенеза как и TGF- β 1 и BMP-2 [36].

Молекула Notch1 является наиболее хорошо изученным рецептором в отношении хондрогенеза и высоко экспрессируется в МСК, в зонах прегипертрофических и гипертрофических хондроцитов в эмбрионах, а также в поверхностном слое суставного хряща. Так, RBPjk-зависимый Notch нацелен на HES1 и HES5, подавляет хондрогенез и способствует гипертрофии хондроцитов. При этом, только HES5 непосредственно регулирует транскрипцию Sox9 для координации развития хряща [37].

Из семейства интерлейкинов, IL-8 может инициировать *in vitro* миграцию чМСК через CXCR2-опосредованный PI3k/Akt сигнальный путь. IL-8 усиливает остеогенез, индуцирует хондрогенную дифференцировку МСК через CXCR2-опосредованный PI3k/Akt сигнальный путь как *in vitro*, так и *in vivo* [38]. Кроме того, результаты некоторых исследований подтверждают экспрессию CaSR в чМСК, и раскрывают важную роль для взаимодействия между CaSR и PTH1R в регуляции судьбы МСК и выборе пути для формирования костей [39]. Профиль транскрипции, индуцированный гипоксией, играет также важную роль в хондрогенной дифференцировке МСК и опосредуется комплексом гипоксии-индуцибельного фактора (HIF). Согласно полученным данным функция HIF-1 α во время хондрогенеза hBM-MSK может регулироваться механизмами с

большой зависимостью от 2-оксоглутарата, чем наличия Fe^{2+} . Эти результаты имеют важное значение для понимания заболеваний хряща и разработки целевых методов лечения ОА [40].

Выводы. Исследования посвященные проблемам регулирования процесса хондрогенеза и клеточной инженерии хрящевой ткани остаются в настоящее время актуальными проблемами, учитывая увеличение распространенности остеодегенеративных ортопедических заболеваний. В то время как многие биологические регуляторы были идентифицированы, имплантация хондроцитов, или МСК выращенных *in vitro* не дала значительных клинических результатов. Использование систем клеточной инженерии позволяет ученым и врачам вводить факторы роста и питательные вещества в значительной степени аваскулярную хрящевую ткань и дает наиболее обнадеживающие результаты. Изучение биомаркеров ОА, а также регуляции хондрогенеза различными молекулами является будущим в технике клеточной инженерии хрящевой ткани с целью восстановления хряща поврежденного ОА.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа была выполнена при поддержке Ереванского Государственного Медицинского Университета.

MOLECULAR MECHANISMS OF CHONDRO- AND OSTEOGENESIS DISORDERS DURING OSTEOARTHRITIS AND THE WAYS OF CORRECTING THEM

A.L. Torgomyan, M.Yu. Saroyan

Yerevan State Medical University (YSMU),
Department of Physiology
2, Koryun Str., Yerevan, Armenia
E-mail: adelinatorgomyan@yahoo.com

The investigations, dedicated to the problem of regulating the process of chondrogenesis and cell engineering of the cartilage tissue, continue to be relevant nowadays, taking into consideration the degree of increasing incidence of osteodegenerative orthopedic diseases. The analysis of scientific literature was conducted to review molecular changes, developing in cartilage tissue during osteoarthritis (OA). The search in international and domestic databases was performed by key words. Forty references, relevant to the topic, were selected. Many biological regulators were identified and analyzed for the possibility of including them into the processes of osteo- and chondrogenesis. The study of OA biomarkers and subsequent regulation of chondrogenesis using different molecules is the future of cartilage tissue cell engineering, aimed at restoring the cartilage, damaged by OA.

МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ ПОРУШЕННЯ ХОНДРО- І ОСТЕОГЕНЕЗУ ЗА ОСТЕОАРТРИТУ ТА ШЛЯХИ ЇХ КОРЕКЦІЇ

А.Л. Торгомян, М.Ю. Сароян

Дослідження, присвячені проблемі регулювання процесу хондрогенезу та клітинної інженерії хрящової тканини, на сьогодні залишаються актуальними, беручи до уваги ступінь підвищення розповсюдження остеодегенеративних ортопедичних захворювань. Був реалізований аналіз літературних даних, де вивчали дослідження молекулярних змін, які спостерігаються в хрящовій тканині за остеоартритом. За ключовими словами було проведено пошук міжнародних та національних баз даних. Відібрано 40 джерел, відповідних за даною тематикою. Було ідентифіковано біологічні біорегулятори з аналізом можливості їх включення в процеси остео- та хондрогенезу. Вивчення біомаркерів остеоартритом, а також наступна регуляція хондрогенезу різними молекулами, є наступним кроком у техніці клітинної інженерії хрящової тканини з цільовим відтворенням хряща, пошкодженого остеоартритом.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Li, G., Yin, J., Gao, G., Cheng T.S., Pavlos, N.J., Zhang, C., and Zheng, M.H., Subchondral bone in osteoarthritis: insight into risk factors and microstructural changes. *Arthrit. Res. Therap.*, 2013, vol. 15, pp. 223. doi: 10.1186/ar4405.
- Ryd, L., Brittberg, M., Eriksson, K., Jurvelin, J.S., Lindahl, A., Marlovits, S., Moller, P., Richardson, J.B., Steinwachs, M., and Zenobi-Wrong, M., Pre-Osteoarthritis: Definition and Diagnosis of an Elusive Clinical Entity. *Cartilage*, 2015, vol. 6, no. 3, pp. 156–65. doi: 1947603515586048.
- Katayama, K., Kuriki, M., Kamiya, T., Tochigi, Y., and Suzuki, H., Giantin is required for coordinated production of aggrecan, link protein and type XI collagen during chondrogenesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2018, vol. 499, no. 3, pp. 459–65. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.03.163.
- Ikehata, M., Yamada, A., Fujita, K., Yoshida, Y., Kato, T., Sakashita, A., Ogata, H., Iijima, T., Kuroda, M., Chikazu, D., and Kamijo, R., Cooperation of Rho family proteins Rac1 and Cdc42 in cartilage development and calcified tissue formation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2018, vol. 500, no. 3, pp. 525–9. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.04.032.
- Tan, Q., Chen, B., Wang, Q., Xu, W., Wang, Y., Lin, Z., Luo, F., Huang, S., Zhu, Y., Su, N., Jin, M., Li, C., Kuang, L., Qi, H., Ni, Z., Wang, Z., Luo, X., Jiang, W., Chen, H., Chen, S., Li, F., Zhang, B., Huang, J., Zhang, R., Jin K¹, Xu, X., Deng, C., Du, X.,

- Xie, Y., Chen, L., A novel FGFR1-binding peptide attenuates the degeneration of articular cartilage in adult mice. *Osteoarthritis Cartilage*, 2018, pii: S1063-4584, vol. 18, pp. 31434–1. doi: 10.1016/j.joca.2018.08.012.
6. Roh, J.S., Sohn, D.H., Damage-Associated Molecular Patterns in Inflammatory Diseases. *Immun. Netw.*, 2018, vol. 18, no. 4, e27, doi: 10.4110/in.2018.18.e27.
 7. Zhong, D., Zhang, M., Yu, J., and Luo, Z.P., Local Tensile Stress in the Development of Posttraumatic Osteoarthritis. *BioMed Res. Inter.*, 2018, vol. 2018, Article ID 4210353, doi: 10.1155/2018/421035.
 8. Osiecka-Iwan, A., Hyc, A., Radomska-Lesniewska, D.M., Rymarczyk, A., and Skopinski, P., Antigenic and immunogenic properties of chondrocytes, implications for chondrocyte therapeutic transplantation and pathogenesis of inflammatory and degenerative joint diseases. *Cent. Eur. J. Immunol.*, 2018, vol. 43, no. 2, pp. 209–19. doi: 10.5114/ceji.2018.77392.
 9. Kraus, V.B., Nevitt, M., and Sandell, L.J., Summary of the OA biomarkers workshop 2009 – biochemical biomarkers: biology, validation, and clinical studies. *Osteoarthritis Cartilage*, 2010, vol. 18, no. 6, pp. 742–5. doi: 10.1016/j.joca.2010.02.014.
 10. Kraus, V.B., Waiting for action on the osteoarthritis front. *Curr. Drug. Targets.*, 2010, vol. 11, no. 5, pp. 518–20. PMID 20199398.
 11. Freeston, J.E., Garnero, P., Wakefield, R.J., Hensor, E.M., Conaghan, P.G., and Emery, P., Urinary type II collagen terminal peptide is associated with synovitis and predicts structural bone loss in very early inflammatory arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 2011, vol. 70, no. 2, pp. 331–3. doi: 10.1136/ard.2010.129304.
 12. Duan, Y., Hao, D., Li, M. Wu, Z., Li, D., Yang, X., and Qui, G., Increased synovial fluid visfatin is positively linked to cartilage degradation biomarkers in osteoarthritis. *Rheumatol. Int.*, 2012, vol. 32, no. 4, pp. 985–90, doi: 10.1007/s00296-010-1731-8.
 13. Ishijima, M., Watari, T., Naito, K., Kaneko, H., Futami, I., Ioshimuda-Ishida, K., Tomonaga, A., Yamaguchi, H., Yamamoto, T., Nagaoka, I., Kurosawa, H., Poole, R.A., and Kaneko, K., Relationships between biomarkers of cartilage, bone, synovial metabolism and knee pain provide insights into the origins of pain in early knee osteoarthritis. *Arthritis Res. Ther.*, 2011, vol. 13, no. 1, R22, doi: 10.1186/ar3246.
 14. Kokebie, R., Aggarwal, R., Lidder, S., Hakimian, A., Ruegel, D.C., Block, J.A., and Chubinskaya, S., The role of synovial fluid markers of catabolism and anabolism in osteoarthritis, rheumatoid arthritis and asymptomatic organ donors. *Arthritis Res. Ther.*, 2011, vol. 13, no. 2, R501, doi: 10.1186/ar3293.
 15. Patra, D., Sandell, L., Evolving biomarkers in osteoarthritis. *J. Knee Surg.*, 2011, vol. 24, pp. 241–50. PMID 22303753.
 16. Occhetta, P., Pigeot, S., Rasponi, M., Dasen, B., Mehrkens, A., Ullrich, T., Kramer, I., Guth-Gundel, S., Barbero, A., and Martin, I., Developmentally inspired programming of adult human mesenchymal stromal cells toward stable chondrogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2018, vol. 115, no. 18, pp. 4625–30. doi: 10.1073/pnas.1720658115.
 17. Handorf, A.M., Chamberlain, C.S., and Li, W.J., Endogenously produced Indian hedgehog regulates TGFb-driven chondrogenesis of human bone marrow stromal/stem cells. *Stem. Cells Dev.*, 2015, vol. 24, pp. 995–1007. doi: 10.1089/scd.2014.0266.
 18. Oseni, A.O., Crowley, C., Boland, M.Z., Butler, P.E., and Seifalian, A.M., Cartilage tissue engineering: the application of nanomaterials and stem cell technology. *Tiss. Eng. Regen. Med.*, 2011. doi: 10.5772/22453.
 19. Correa, D., Somoza, R.A., Lin, P., Greenberg, S., Rom, E., Duesler, L., Welter, J.F., Yayon, A., and Caplan, A.I., Sequential exposure to fibroblast growth factors (FGF) 2, 9 and 18 enhances hMSC chondrogenic differentiation. *Osteoarthr. Cartil.*, 2015, vol. 23, pp. 443–53. doi: 10.1016/j.joca.2014.11.013.
 20. Hellingman, C.A., Davidson, E.N., Koevoet, W., Vitters, E.L., van den Berg, W.B., van Osch, G.J.V.M., and van der Kraan, P.M., Smad signaling determines chondrogenic differentiation of bone-marrow-derived mesenchymal stem cells: inhibition of Smad1/5/8P prevents terminal differentiation and calcification. *Tiss. Eng. Part. A.*, 2011, vol. 17, pp. 1157–67, doi: 10.1089/ten.TEA.2010.0043.
 21. Richter W., Bock, R., Hennig, T., and Weiss, S., Influence of FGF-2 and PTHrP on chondrogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *J. Bone Jt. Surg. Br.*, 2009, 91-B, suppl III, pp. 444. doi/abs/10.1302/0301-620X.91BSUPP_III.0910444c.
 22. Narcisi, R., Cleary, M.A., Brama, P.A., Hoogduijn, M.J., Tuysuz, N., Berge, D., and van Osch, G.J.V.M., Long-term expansion, enhanced chondrogenic potential, and suppression of endochondral ossification of adult human MSCs via WNT signaling modulation. *Stem. Cell Rep.*, 2015, vol. 4, pp. 459–72. doi: 10.1016/j.stemcr.2015.01.017.
 23. Correa, D., Somoza, R.A., Lin, P., Greenberg, S., Rom, E., Duesler, L., Welter, J.F., Yayon, A., and Caplan, A.I., Sequential exposure to fibroblast growth factors (FGF) 2, 9 and 18 enhances hMSC chondrogenic differentiation. *Osteoarthr. Cartil.*, 2015, vol. 23, pp. 443–53. doi: 10.1016/j.joca.2014.11.013.
 24. Dai, J., Wang, J., Lu, J., Zou, D., Sun, H., Dong, Y., Yu, H., Zhang, L., Yang, T., Zhang, X., Wang, X., and Shen, G., The effect of co-culturing costal

- chondrocytes and dental pulp stem cells combined with exogenous FGF9 protein on chondrogenesis and ossification in engineered cartilage. *Biomaterials*, 2012, vol. 33, pp. 7699–7711. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.07.020.
25. Govindarajan, V., Overbeek, P.A., FGF9 can induce endochondral ossification in cranial mesenchyme. *BMC Dev. Biol.*, 2006, vol. 6, pp. 7. doi: 10.1186/1471-213X-6-7.
 26. Jiang, X., Huang, X., Jiang, T., Zheng, L., Zhao, J., and Zhang, X., The role of Sox9 in collagen hydrogel-mediated chondrogenic differentiation of adult mesenchymal stem cells (MSCs). *Biomater Sci.*, 2018, vol. 6, no. 6, pp. 1556–68. doi: 10.1039/c8bm00317c.
 27. Cleary, M.A., van Osch, G.J., Brama, P.A., Hellingman, C.A., and Narcisi, R., FGF, TGF β and Wnt crosstalk: embryonic to *in vitro* cartilage development from mesenchymal stem cells, *J. Tiss. Eng. Regen.*, 2015, vol. 9, pp. 332–42. doi: 10.1002/term.1744.
 28. Long, F., Ornitz, D.M., Development of the endochondral skeleton, *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, 2013, vol. 5:a008334. doi: 10.1101/cshperspect.a008334.
 29. Augustyniak, E., Trzeciak, T., Richter, M., Kaczmarczyk, J., and Suchorska, W., The role of growth factors in stem cell-directed chondrogenesis: a real hope for damaged cartilage regeneration, *Int. Orthop.*, 2015, vol. 39, pp. 995–1003. doi: 10.1007/s00264-014-2619-0.
 30. Madry, H., Rey-Rico, A., Venkatesan, J.K., Johnstone, B., and Cucchiari, M., Transforming growth factor Beta-releasing scaffolds for cartilage tissue engineering. *Tiss. Eng. Part B Rev.*, 2014, vol. 20, pp. 106–25. doi: 10.1089/ten.TEB.2013.0271.
 31. Mu, Y., Gudey, S.K., Landström, M., Non-Smad signaling pathways. *Cell Tiss. Res.*, 2012, vol. 347, pp. 11–20. doi: 10.1007/s00441-011-1201-y.
 32. Kamel, G., Hoyos, T., Rochard, L., Dougherty, M., Kong, Y., Tse, W., Shubinets, V., Grimaldi, M., and Liao, E.C., Requirements for *frzb* and *fzd7a* in cranial neural crest convergence and extension mechanisms during zebrafish palate and jaw morphogenesis, *Dev. Biol.*, 2013, vol. 381, pp. 423–33. doi: 10.1016/j.ydbio.2013.06.012.
 33. Matsumoto, S., Fumoto, K., Okamoto, T., Kaibuchi, K., and Kikuchi, A., Binding of APC and dishevelled mediates Wnt5a-regulated focal adhesion dynamics in migrating cells. *EMBO J.*, 2010, vol. 29, pp. 1192–204. doi: 10.1038/emboj.2010.26.
 34. Daoud, G., Kempf, H., Kumar, D., Kozhemyakina, E., Holowacz, T., Kim, D.W., Ionescu, A., and Lassar, A.B., BMP-mediated induction of GATA4/5/6 blocks somitic responsiveness to SHH. *Development*, 2014, vol. 141, pp. 3978–87. doi: 10.1242/dev.111906.
 35. Tsushima, H., Tang, Y.J., Puvindran, V., Hsu, S.C., Nadesan, P., Yu, C., Zhang, H., Mirando, A.J., Hilton, M.J., and Alman, B.A., Intracellular biosynthesis of lipids and cholesterol by Scap and Insig in mesenchymal cells regulates long bone growth and chondrocyte homeostasis. *Development*, 2018, vol. 145, no. 13, dev162396. doi: 10.1242/dev.162396.
 36. Handorf, A.M., Chamberlain, C.S., and Li, W.J., Endogenously produced Indian hedgehog regulates TGF β -driven chondrogenesis of human bone marrow stromal/stem cells, *Stem. Cells Dev.*, 2015, vol. 24, pp. 995–1007. doi: 10.1089/scd.2014.0266.
 37. Rutkowski, T.P., Kohn, A., Sharma, D., Ren, Y., Mirando, A.J., and Hilton, M.J., HES factors regulate specific aspects of chondrogenesis and chondrocyte hypertrophy during cartilage development, *J. Cell Sci.*, 2016, vol. 129, no. 11, pp. 2145–55. doi: 10.1242/jcs.181271.
 38. Yang, A., Lu, Y., Xing, J., Li, Z., Yin, X., Dou, C., Dong, S., Luo, F., Xie, Z., Hou, T., and Xu, J., IL-8 Enhances Therapeutic Effects of BMSCs on Bone Regeneration via CXCR2-Mediated PI3k/Akt Signaling Pathway, *Cell Physiol. Biochem.*, 2018, vol. 48, no. 1, pp. 361–70. doi: 10.1159/000491742.
 39. Sarem, M., Heizmann, M., Barbero, A., Martin, I., and Shastri, V.P., Hyperstimulation of CaSR in human MSCs by biomimetic apatite inhibits endochondral ossification via temporal down-regulation of PTH1R. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2018, vol. 115, no. 27, pp. 6135–44. doi: 10.1073/pnas.1805159115.
 40. Taheem, D.K., Foyt, D.A., Loaiza, S., Ferreira, S.A., Ilic, D., Auner, H.W., Grigoriadis, A.E., Jell, G., and Gentleman, E., Differential Regulation of Human Bone Marrow Mesenchymal Stromal Cell Chondrogenesis by Hypoxia Inducible Factor-1 α Hydroxylase Inhibitors, *Stem. Cells*, 2018, vol. 36, no. 9, pp. 1380–92. doi: 10.1002/stem.2844.

Поступила в редакцию 17.12.18

После доработки 14.08.19

Принята в печать 18.07.20