

Проблемы и перспективы консервирования костно-хрящевых трансплантатов

**А.А. Будаев^{✉1}, М.С. Макаров¹, Н.В. Боровкова^{1,2,3}, А.А. Офицеров¹,
И.Н. Пономарев¹, И.Ю. Мигуleva¹**

¹ ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»,
129090, Россия, Москва, Большая Сухаревская пл., д. 3;

² Кафедра трансплантологии и искусственных органов им. В.П. Демихова МБФ
ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ (Пироговский Университет);
117997, Россия, Москва, ул. Островитянова, д. 1;

³ Кафедра клинической лабораторной диагностики с курсом лабораторной иммунологии
ФГБОУ ДПО РМАНПО МЗ РФ,
125993, Россия, Москва, Баррикадная ул., д. 2/1, стр. 1

[✉] Автор, ответственный за переписку: Антон Аркадьевич Будаев, научный сотрудник отделения биотехнологий и трансфузиологии НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, budaevaa@sklif.mos.ru

Аннотация

Введение. Суставной гиалиновый хрящ имеет особые структурно-функциональные характеристики, сохранение которых имеет критическое значение при консервировании трансплантатов, содержащих хрящевую ткань. Аллогенные костно-хрящевые трансплантаты (КХТ) являются перспективными при лечении дефектов суставного аппарата. Однако широкое клиническое применение КХТ имеет существенные затруднения, связанные с выбором эффективных методик консервации и стерилизации.

Цель. Провести комплексный анализ современных методов консервирования аллогенных КХТ с оценкой их влияния на структурную целостность ткани, биомеханические свойства и клеточную жизнеспособность.

Материал и методы. В работе систематизированы сведения из научных публикаций, отобранных в базах данных Scopus, PubMed, eLibrary и КиберЛенинка за период с 1980 по 2024 год, с акцентом на исследования, опубликованные за последние 15 лет.

Результаты. Криоконсервирование рассматривается как наиболее удобный метод длительного хранения КХТ, однако его эффективность существенно зависит от оптимизации протоколов, включая подбор адекватных криопротекторов, режимов замораживания и оттаивания. Лиофилизация позволяет успешно сохранить костную часть КХТ, однако вызывает значительную деформацию хрящевой части с потерей ее структурной организации и механических свойств. Хранение КХТ в жидких консервирующих растворах обеспечивает кратковременную сохранность трансплантата (не более 2–3 недель), однако сопровождается прогрессирующими снижением его биомеханических характеристик и развитием отека матрикса. Применение химических агентов (альдегидов, спиртов, глицерина) для консервации КХТ представляется нецелесообразным из-за выраженного цитотоксического действия и негативного влияния на архитектонику ткани. В качестве потенциально перспективного направления рассматривается обработка сверхкритическим диоксидом углерода, позволяющая сочетать стерилизацию тканей с сохранением их структурных свойств.

Заключение. Разработка эффективных методов консервирования аллогенных КХТ, обеспечивающих сохранение их структурно-функциональных характеристик и биологической активности, остается актуальной межdisciplinarnой задачей, требующей интеграции достижений клеточной биологии, криобиологии и тканевой инженерии. На текущем этапе криоконсервирование представляет собой наиболее обоснованный подход, тогда как другие методы нуждаются в дальнейшей экспериментальной и клинической верификации.

Ключевые слова: хрящ, костно-хрящевые трансплантаты, криоконсервирование, лиофилизации, раствор, хондроциты, жизнеспособность, механические свойства

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Финансирование

Научная работа проводилась при поддержке научно-практического проекта, соглашение № 1603-22/23 от 21.04.2023 г.

Для цитирования: Будаев А.А., Макаров М.С., Боровкова Н.В., Офицеров А.А., Пономарев И.Н., Мигуleva И.Ю. Проблемы и перспективы консервирования костно-хрящевых трансплантатов. Трансплантология. 2025;17(4):494–503. <https://doi.org/10.23873/2074-0506-2025-17-4-494-503>

© Будаев А.А., Макаров М.С., Боровкова Н.В., Офицеров А.А., Пономарев И.Н., Мигуleva И.Ю., 2025

Problems and prospects of bone-cartilage grafts' preservation

A.A. Budaev^{✉1}, M.S. Makarov¹, N.V. Borovkova^{1,2,3}, A.A. Ofitcerov¹, I.N. Ponomarev¹, I.Yu. Miguleva¹

¹ N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine,
3 Bolshaya Sukharevskaya Sq., Moscow 129090 Russia;

² V.P. Demikhov Department of Transplantology and Artificial Organs,
N.I. Pirogov Russian National Research Medical University (Pirogov University),
1 Ostrovityanov St., Moscow 117997 Russia;

³ Department of Clinical Laboratory Diagnostics with a Course in Laboratory Immunology,
Russian Medical Academy of Continuous Professional Education,
2/1 Bldg. 1 Barrikadnaya St., Moscow 125993 Russia

[✉] Corresponding author: Anton A. Budaev, Researcher, Scientific Department of Biotechnologies and Transfusion, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, budaevaa@skrif.mos.ru

Abstract

Introduction. Articular hyaline cartilage has special structural and functional characteristics, which are critically important for preserving tissue grafts, containing cartilage elements. Allogeneic bone-cartilage grafts (BCG) could be very perspective in the treatment of joint defects. However, the widespread clinical use of BCG shows significant difficulties, associated with effective choice of preservation and sterilization methods.

The aim of the study was to analyze modern methods of allogeneic BCG-preserving, according to their effect on the structural integrity of tissue, biomechanical properties and cellular viability.

Material and methods. We systematized data from scientific publications selected in the Scopus, PubMed, eLibrary, and CyberLeninka databases for the period from 1980 to 2024, with a focus on research published over the past 15 years.

Results. Cryopreservation is considered as the most convenient method for long-term storage of BCG, however, its effectiveness significantly depends on the optimization of protocols, including the selection of adequate cryoprotectors, freezing and thawing modes. Lyophilization successfully allows to preserve bone part of BCG, but it causes significant deformation of cartilaginous part, loss of its structural organization and mechanical properties. BCG-storage in liquid culture media and solutions ensures short-term preservation of the graft (about 2–3 weeks), longer storage is accompanied with progressive decrease of biomechanical characteristics and the development of matrix edema. The use of chemical agents (aldehydes, alcohols, glycerol) for BCG-preservation seems impractical due to their pronounced cytotoxic effect and negative effect on tissue architecture. Supercritical CO₂ treatment is considered as potentially promising method, targeted on combining tissue sterilization and preservation of structural properties.

Conclusion. The development of effective methods for preserving allogeneic BCG, ensuring the maintenance of their structural and functional characteristics, remains an urgent interdisciplinary task, requiring integration of advances in cell biology, cryobiology and tissue engineering. At the current stage, cryopreservation is the most reasonable approach, while other methods require further experimental and clinical verification.

Keywords: cartilage, bone-cartilage grafts, cryopreservation, lyophilization, liquid solution, chondrocytes, viability, mechanical properties

CONFLICT OF INTERESTS Authors declare no conflict of interest

FINANCING The research was supported by a scientific and practical project, Agreement No. 1603-22/23 dated 21.04.2023

For citation: Budaev AA, Makarov MS, Borovkova NV, Ofitcerov AA, Ponomarev IN, Miguleva IYu. Problems and prospects of bone-cartilage grafts' preservation. *Transplantologiya. The Russian Journal of Transplantation*. 2025;17(4):494–503. (In Russ.). <https://doi.org/10.23873/2074-0506-2025-17-4-494-503>

ДМСО – диметилсульфоксид
КХТ – костно-хрящевой трансплантат

СКДУ – сверхкритический диоксид углерода

Актуальность

Суставной гиалиновый хрящ представляет собой высокоспециализированный тип ткани с уникальными структурно-функциональными характеристиками. Основным структурным компонентом суставного хряща (95% от всего объема) является межклеточный матрикс, который формируется благодаря секреторной активности хондроцитов. В состав межклеточного матрикса входит коллаген II, V, VI, IX–XII и XIV типа, различные протеогликаны, тесно ассоциированные с коллагеном и гиалуроновой кислотой. Благодаря особому химическому составу внутри матрикса формируется стабильный отрицательный заряд, который способствует привлечению большого числа катионов и высокой осмолярности матрикса, что является необходимым для удержания больших объемов воды в матриксе и поддержания общей структуры хряща [1, 2]. В суставном хряще отсутствуют мезенхимальные стволовые клетки и плюрипотентные клетки-предшественники, а также кровеносные и лимфатические сосуды [3–5]. Эти структурные особенности заметно снижают способность суставного хряща к репарации и регенерации. В условиях снижения жизнеспособности и гибели хондроцитов создается риск нарушения всей структуры хряща из-за невозможности синтезировать компоненты межклеточного матрикса *in situ* [6–8]. Как правило, на месте поврежденного хряща формируется фиброзно-хрящевая ткань, которая обладает гораздо меньшими биомеханическими свойствами, что со временем приводит к развитию артрита и дегенерации суставной поверхности [2, 9, 10]. Таким образом, восстановление структуры суставного хряща представляет актуальную задачу биологии и медицины. В настоящее время отсутствуют общепринятые эффективные методики лечения дефектов хрящевой ткани. Получение хрящевой ткани или ее эквивалентов из аутологичного материала *in vitro* с помощью клеточно-тканевой инженерии, создание 3D-моделей, заменяющих хрящ, в настоящее время еще не дает стабильных положительных результатов [7, 11–13]. Для хирургического лечения дефектов хряща предлагаются следующие подходы: формирование микротрещин для стимуляции миграции плюрипотентных клеток в хрящ; имплантация хондроцитов без матрикса и в составе матрикса; костно-хрящевая пластика (использование тканевых трансплантатов, содержащих костную и хрящевую ткань) [6, 9, 14–19].

Аутологичные трансплантаты на основе субхондральной кости применяются с конца 50-х годов XX века [20–22]. Субхондральная кость содержит сосуды, что способствует миграции клеток в зону хрящевого дефекта. Во второй половине XX века было показано, что для костно-хрящевой пластики также могут быть использованы аллогенные ткани [23, 24]. Использование аллогенных костно-хрящевых трансплантатов (КХТ) имеет ряд преимуществ: возможность заблаговременной заготовки трансплантата и его карантинизации; отсутствие дополнительной травматизации пациента, которая присутствует при заготовке аутологичных трансплантатов; сокращение сроков операции. Тем не менее, широкое применение аллогенных КХТ сталкивается с рядом трудностей, обусловленных особенностями хранения и стерилизации таких изделий. Эффективные методы консервирования КХТ должны одновременно обеспечивать сохранение общей архитектуры трансплантата, его механических характеристик и жизнеспособности клеток в составе хряща. В литературе описаны различные подходы к консервации КХТ. Несмотря на большое количество исследований, до сих пор отсутствует консенсус относительно наиболее эффективного метода, что делает актуальным проведение сравнительного анализа имеющихся литературных данных.

Целью данного обзора является анализ публикаций в научных изданиях на тему консервирования аллогенных костно-хрящевых трансплантатов с точки зрения сохранности структурной целостности и биомеханических свойств трансплантатов и жизнеспособности клеток в их составе.

Материал и методы

Для достижения поставленной цели был выполнен поиск публикаций отечественных и зарубежных научных исследований, посвященных изготовлению и консервированию аллогенных КХТ. Поиск литературы проводили в электронных поисковых системах Scopus, PubMed, eLibrary, КиберЛенинка, по ключевым словам: аллогенные трансплантаты, трансплантация аллогенного хряща, способы консервирования аллогенных тканей, КХТ. Для анализа были выбраны научные статьи и метаанализы, опубликованные с 1980 по 2024 год. Большая часть научных работ (80%) была опубликована не более 15 лет назад.

Критерии включения исследований в аналитическую обработку: оригинальные исследования или метаанализы, посвященные методам консервирования КХТ, с оценкой хотя бы одного из параметров (жизнеспособность клеток, сохранность межклеточного матрикса, механические свойства). В анализ включены 50 исследований, которые были классифицированы по 4 группам в зависимости от предлагаемого способа консервирования КХТ: 1-я группа – криоконсервирование ($n=18$), 2-я группа – лиофилизация ($n=14$), 3-я группа – хранение в питательных средах ($n=12$), 4-я группа – другие методы ($n=6$). В ходе анализа оценивали данные по сохранности жизнеспособных клеток (в %), сохранность внеклеточного матрикса, изменения механических свойств КХТ и сроки возможного хранения.

Криоконсервирование

В настоящее время криоконсервирование является единственным эффективным способом длительного хранения тканей, содержащих жизнеспособные клетки. Для сохранения клеточного состава КХТ в условиях хранения при низких и сверхнизких температурах используют вещества, защищающие ткани от действия холода (криопротекторы). В зависимости от способности проникать в клетки выделяют два типа криопротекторов – эндоцеллюлярные (проникающие в клетки) и экзоцеллюлярные (не проникающие в клетки). К наиболее известным эндоцеллюлярным криопротекторам относят диметилсульфоксид (ДМСО), глицерин, поливинилпирролидон, к экзоцеллюлярным – растворы углеводов с низкой тоничностью и осмолярностью (декстран, трегалоза, сахароза). Для криоконсервирования КХТ предлагается использовать эндоцеллюлярные криопротекторы [25–27]. Многие исследователи рассматривают 5–10% раствор ДМСО в качестве «золотого стандарта», который обеспечивает высокую сохранность клеток при заморозке и длительном криохранении. С другой стороны, в условиях положительных температур ДМСО значительно повышает осмолярность среды и повреждает мембранные компоненты клеток, что сопровождается их гибелю или изменением функционального состояния, меняет конформацию белков [28]. В связи с этим после криоконсервирования необходимо оперативно удалять избыток ДМСО из клеточной супензии или тканей. Существуют различные подходы к использованию медленного и программного замораживания КХТ в присутствии ДМСО [29–37].

В условиях высокой плотности матрикса КХТ диффузия ДМСО внутрь ткани при подготовке к замораживанию и при размораживании может быть значительно затруднена, что в значительной степени мешает обеспечить стабильную сохранность клеток в КХТ. По данным разных исследователей, при использовании 10% ДМСО сохранность структурно-полноценных хондроцитов в составе КХТ варьирует от 10 до 80% от их исходного содержания в трансплантате, в ряде работ отмечается резкое снижение метаболической активности клеток КХТ после разморозки [19, 33–36]. Кроме того, в 80–85% случаев наблюдается частичное повреждение структуры коллагенового матрикса, что сопровождается снижением его прочностных характеристик на 15–20% по сравнению с нативными образцами [32, 34, 35]. В качестве альтернативы ДМСО предлагается использовать препарат арбутин (4-гидроксифенил- β -D-глюкопиранозид) в концентрации 50–100 ммол/л, который обладает высокими проникающими и криопротекторными свойствами [38]. Использование арбутина позволяет в 1,5–2 раза повысить сохранность клеток в криоконсервированных КХТ. Необходимо отметить, что независимо от типа используемого криопротектора жизнеспособные хондроциты выявляются, главным образом, в поверхностных слоях хряща даже в условиях длительной инкубации с криопротектором (1,0–1,5 часа). Таким образом, известные криопротекторы не способны проникнуть на всю глубину хрящевой части КХТ в течение того срока, пока идет подготовка КХТ к заморозке [30–36, 38]. Тем не менее считается, что криоконсервирование аллогенных КХТ в целом сохраняет функциональные свойства хряща. По данным клинических исследований, более чем в 70% случаев криоконсервированные КХТ позволяют восполнить дефекты суставного хряща в течение 5 лет после операции [14, 29]. Главной проблемой такого способа хранения является риск резорбции костного фрагмента. Криоконсервирование нативной кости, изначально содержащей живые клетки, часто приводит к лизису и потере трансплантата [37, 39]. Таким образом, для эффективного криоконсервирования КХТ требуется оптимизация протоколов подготовки трансплантатов и выбор криопротектора. Одним из путей решения этой задачи является использование комбинации эндоцеллюлярных и экзоцеллюлярных криопротекторов, что может повысить сохранность клеток и тканей при криоконсервировании. Изучение эффективности

комбинирования криопротекторов при хранении КХТ остается важной задачей.

Лиофилизация

Лиофилизация (сушка замораживанием, freeze-drying) – метод консервации биологических тканей, широко применяемый для хранения тканевых трансплантатов. Этот процесс включает замораживание до $-40/-80^{\circ}\text{C}$ с последующей сублимацией воды под вакуумом [40]. Температура высушивания тканевых трансплантатов обычно составляет от -30°C до $+37^{\circ}\text{C}$, а его длительность – от 24 до 72 часов. Лиофилизация позволяет сохранять общие механические свойства ткани и значительную часть ее внеклеточного матрикса, а также проводить эффективную стерилизацию трансплантатов ионизирующим облучением и хранить их в условиях комнатной температуры, что является удобным для практики медицинских учреждений. Все методики лиофилизации включают обработку кости веществами, необратимо разрушающими клеточные мембранны, и отмытие от клеточных фрагментов. Лиофилизация позволяет эффективно сохранять общую топографию кости. При лиофилизации КХТ более чем в 90% случаев отмечалась высокая сохранность внеклеточного матрикса кости, механическая прочность сохранялась на 80–90% от исходных значений [41–44]. Однако при этом происходит полная декомпозиция хрящевого компонента с невозможностью ее последующей регидратации. Кроме того, лиофилизация не позволяет сохранять жизнеспособные клетки ни в костной, ни в хрящевых частях КХТ. В результате механические свойства удается сохранить только в костной части КХТ, в то время как ткань хряща оказывается значительно поврежденной. Есть данные, что лиофилизированные КХТ оказывают положительный клинический эффект в 75–80% и обладают способностью к интеграции в здоровую ткань [42, 45]. С другой стороны, многие авторы отмечают замедленную реваскуляризацию лиофилизированных КХТ по сравнению с криоконсервированными КХТ, увеличенный риск переломов лиофилизированных КХТ при высоких нагрузках [3, 44]. Наши собственные исследования показывают, что использование стандартных методик лиофилизации костных трансплантатов вызывает необратимую деградацию хрящевой части КХТ. Не исключено, что для адекватной лиофилизации КХТ необходимо использовать иные методологические и технологические подходы, которые еще только предстоит разработать. В

целом, главным недостатком лиофилизации при консервировании КХТ является невозможность сохранения их клеточного компонента.

Хранение в жидким консервирующем растворе

Консервирующие растворы используются в тех случаях, когда требуется сохранить жизнеспособные клетки в составе трансплантатов, без использования методик криоконсервирования. Такой подход наиболее распространен при хранении органов. Наиболее физиологичными для хранения трансплантатов с жизнеспособными клетками являются питательные среды для клеточных культур или изотонические буферно-солевые растворы с добавлением антибиотиков. Показано, что хранение КХТ в таких средах дает высокие краткосрочные результаты по сохранности жизнеспособных клеток (80–85% в течение 7 дней) [20, 43]. Однако при дальнейшем хранении происходит значительное снижение качества трансплантата. Уже через 14–28 дней отмечается снижение механических параметров на 40–50%, в 60% случаев развивается отек матрикса [20]. Максимальный срок хранения такого трансплантата составляет всего 2–3 недели, что существенно ограничивает его клиническое применение. Эти данные указывают на необходимость разработки усовершенствованных питательных сред и аппаратных систем для поддержания жизнеспособности клеток с обязательным обеспечением стерильности.

Альтернативные методы хранения КХТ в растворе при комнатной или низкоположительной температуре включают использование химических агентов с высокой проникающей активностью, способных стабилизировать общую структуру ткани. К таким веществам относятся альдегиды (формальдегид, глутаровый альдегид), спирты (этанол, изопропанол) и глицерин в высокой концентрации [17, 29]. Альдегиды и спирты широко используются в клеточной биологии для сохранения общей топографии клеток и ткани, одновременно с этим указанные препараты являются дезинфицирующими агентами, что позволяет обеспечить стерильность трансплантата без использования ионизирующего облучения [40]. Однако все эти подходы позволяют сохранить только внеклеточный матрикс трансплантатов, но не клетки, что приводит к последующей деградации хрящевой части КХТ в условиях *in vivo*. Кроме того, указанные химические агенты обладают выраженным токсическим эффектом, в силу чего они необратимо влияют на биохими-

ческие свойства компонентов внеклеточного матрикса КХТ и поэтому не разрешены для клинического использования в ряде стран [40]. Таким образом, использование химических агентов для консервирования КХТ представляется неоправданным.

Обработка сверхкритическим флюидом диоксида углерода

Перспективным методом обработки тканевых трансплантатов, содержащих живые клетки, может стать использование сверхкритической жидкости на основе диоксида углерода – СКДУ. Сверхкритическая жидкость является особой агрегатной формой вещества, при которой вещество сочетает физические свойства газа и жидкости и обладает высокой проникающей способностью. Показано, что СКДУ обладает бактерицидным эффектом и не вызывает видимого нарушения структуры коллагеновых волокон в составе мягких тканей и кости [46–50]. СКДУ – гораздо менее токсичный агент по сравнению с альдегидами и спиртами и не требует лиофилизации трансплантата. Ряд исследователей указывают, что после обработки СКДУ общая архитектура и механические характеристики хряща сохраняются [46, 49], однако также есть сведения о нарушении топографии протеогликанов в составе межклеточного матрикса после обработки СКДУ [47]. При консервации тканевых трансплантатов обработку СКДУ предполагается использовать в комбинации с проникающими химическими агентами (этанол, перекись водорода) с целью обеспечения стерильности тканей при сохранности общей структуры [26, 50]. Эффективное использование СКДУ требует выбора оптимальной температуры, давления, декомпрессии и других параметров стерилизации, которые можно определить только экспериментальным путем. Кроме того, обработка только СКДУ будет недостаточной для консервирования КХТ. По всей видимости, для успешного сохранения костной и хряще-

вой части КХТ необходимо использовать СКДУ в комбинации с методиками криоконсервирования. Высокая проникающая способность СКДУ позволяет обеспечить проникновение криопротекторов по всему объему хряща КХТ. В настоящее время такие методы консервирования КХТ не представлены и не предлагаются к использованию, поэтому проведение научно-экспериментальных и научно-практических работ в этом направлении представляется весьма актуальным.

Заключение

На сегодняшний день для сохранения архитектоники ткани и клеток в составе хрящевой части костно-хрящевых трансплантатов оптимальным методом является криоконсервирование. Лиофилизация позволяет сохранить структурную целостность и механические свойства только костной части костно-хрящевых трансплантатов, тогда как хрящевая часть трансплантата деформируется и разрушается. Консервирование костно-хрящевых трансплантатов в питательных растворах возможно только при коротких сроках хранения. Стоит отметить, что хранение костно-хрящевых трансплантатов, содержащих жизнеспособные клетки, неизбежно ставит проблему обеспечения стерильности трансплантата. Общепринятая методика стерилизации трансплантатов ионизирующим излучением в данном случае является неприемлемой, так как будет вызывать необратимую гибель клеток. В связи с этим большой интерес представляет метод обработки трансплантатов сверхкритическим флюидом диоксида углерода, который позволяет эффективно очистить трансплантат от нежелательных клеточных элементов при высокой степени сохранности архитектуры коллагеновых волокон. Таким образом, консервирование костно-хрящевых трансплантатов, содержащих жизнеспособные клетки, остается важной медико-биологической и технологической задачей.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / References

1. Шилько С.В., Ермаков С.Ф. Роль жидкой фазы и пористой структуры хряща в формировании биомеханических свойств суставов. Часть 1. *Российский журнал биомеханики*. 2008;12(2):31–40. Shilko SV, Ermakov SF. The role of liquid phase and porous structure of cartilage in formation of biomechanical properties of joints. Part 1. *Russian Journal of Biomechanics*. 2008;12(2):31–40. (In Russ.).
2. Boyan BD, Dean DD, Lohmann CH, Niederauer GG, McMillan J, Sylvia VL, et al. Cartilage regeneration. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am*. 2002;14(1):105–116. PMID: 18088614 [https://doi.org/10.1016/s1042-3699\(02\)00017-1](https://doi.org/10.1016/s1042-3699(02)00017-1)
3. Hu W, Chen Y, Dou C, Dong S. Micro-environment in subchondral bone: predominant regulator for the treatment of osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2021;80(4):413–422. PMID: 33158879 <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2020-218089>
4. Johnson CC, Johnson DJ, Garcia GH, Wang D, Pais M, Degen RM, et al. High Short-term failure rate associated with decellularized osteochondral allograft for treatment of knee cartilage lesions. *Arthroscopy*. 2017;33(12):2219–2227. PMID: 28967543 <https://doi.org/10.1016/j.arthro.2017.07.018>
5. Simon TM, Jackson DW. Articular cartilage: injury pathways and treatment options. *Sports Med Arthrosc Rev*. 2018;26(1):31–39. PMID: 29300225 <https://doi.org/10.1097/JSA.0000000000000182>
6. Егиазарян К.А., Лазишвили Г.Д., Ратьев А.П., Сиротин И.В., Бут-Гусаим А.Б., Данилов М.А. и др. Современные тенденции в лечении локальных хрящевых дефектов коленного сустава. *Хирургическая практика*. 2020;3(43):65–72. Egiazaryan KA, Lazishvili GD, Ratyev AP, Sirotin IV, But-Gusaim AB, Danilov MA, et al. Modern trends in the treatment of focal cartilage defects of the knee. *Surgical practice (Russia)*. 2020;3(3):65–72. (In Russ.). <https://doi.org/10.38181/2223-2427-2020-3-65-72>
7. Chen M, Guo W, Gao S, Hao C, Shen S, Zhang Z, et al. Biomechanical stimulus based strategies for meniscus tissue engineering and regeneration. *Tissue Eng Part B Rev*. 2018;24(5):392–402. PMID: 29897012 <https://doi.org/10.1089/ten.TEB.2017.0508>
8. Farr J, Gracitelli GC, Shah N, Chang EY, Gomoll AH. High failure rate of a decellularized osteochondral allograft for the treatment of cartilage lesions. *Am J Sports Med*. 2016;44(8):2015–2022. PMID: 27179056 <https://doi.org/10.1177/0363546516645086>
9. Гилев Я.Х., Милуков А.Ю., Устянцев Д.Д. Применение костно-хрящевой мозаичной пластики у пациентов с деформирующими остеоартрозом коленного сустава. *Политравма*. 2018;(1):32–38. Gilev YaKh, Milyukov AYu, Ustyantsev DD. Use of osteochondral graft mosaicplasty in patients with knee osteoarthritis. *Polytrauma*. 2018;(1):32–38. (In Russ.).
10. Insall J. The Pridie debridement operation for osteoarthritis of the knee. *Clin Orthop Relat Res*. 1974;101:61–67. PMID: 4837919
11. Brittberg M. Treatment of knee cartilage lesions in 2024: From hyaluronic acid to regenerative medicine. *J Exp Orthop*. 2024;11(2):e12016. PMID: 38572391 <https://doi.org/10.1002/jeo2.12016>
12. Huang Y, Fan H, Gong X, Yang L, Wang F. Scaffold with natural calcified cartilage zone for osteochondral defect repair in minipigs. *Am J Sports Med*. 2021;49(7):1883–1891. PMID: 33961510 <https://doi.org/10.1177/03635465211007139>
13. Jiang LB, Su DH, Liu P, Ma YQ, Shao ZZ, Dong J. Shape-memory collagen scaffold for enhanced cartilage regeneration: native collagen versus denatured collagen. *Osteoarthritis Cartilage*. 2018;26(10):1389–1399. PMID: 29944927 <https://doi.org/10.1016/j.joca.2018.06.004>
14. Котельников Г.П., Волова Л.Т., Ларцев Ю.В., Долгушкин Д.А., Тертерян М.А. Новый способ пластики дефектов суставного гиалинового хряща комбинированным клеточно-тканевым трансплантатом. *Травматология и ортопедия России*. 2010;1(55):150–155. Kotelnikov GP, Volova IT, Lartsev YuV, Dolgushkin DA, Terteryan MA. The new plastic method of articular hyaline cartilage defects with combined cellular-tissue graft. *Travmatologija i ortopedia Rossii*. 2010;1(55):150–155. (In Russ.).
15. Лазишвили Г.Д., Егиазарян К.А., Ратьев А.П., Сиротин И.В., Гордиенко Д.И., Храменкова И.В. и др. Гибридная костно-хрящевая трансплантация – инновационная методика оперативного лечения рассекающего остеохондрита коленного сустава. *Кафе́дра травматологии и ортопедии*. 2020;1(39):59–66. Lazishvili GD, Egiazaryan KA, Ratyev AP, Sirotin IV, Gordienko DI, Chramenkova IV, et al. Hybrid bone and cartilage transplantation – an innovative technique for surgical treatment of osteochondritis dissecans of the knee joint. *Kafedra traumatologiji i ortopedii*. 2020;1(39):59–66. (In Russ.). <https://doi.org/10.17238/issn2226-2016.2020.1.59-66>
16. Маланин Д.А., Новочадов В.В., Самуслов С.Р., Тетерин О.Г., Сучилин И.А., Жуликов А.Л. Инновационные технологии в восстановлении коленного сустава при его повреждениях и заболеваниях. *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета*. 2009;2(30):7–13. Malanin DA, Novochadov VV, Samusev SR, Teterin OG, Suchilin IA, Julikov AL. Innovative technologies in restoration of damaged or diseased knee joint. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta*. 2009;2(30):7–13. (In Russ.).
17. Zhang X, Zhang W, Yang M. Application of hydrogels in cartilage tissue engineering. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2018;13(7):497–516. PMID: 29046163 <https://doi.org/10.2174/1574888X1266171017160323>
18. Alford JW, Cole BJ. Cartilage restoration, part 1: basic science, historical perspective, patient evaluation, and treatment options. *Am J Sports Med*. 2005;33(2):295–306. PMID: 15701618 <https://doi.org/10.1177/0363546504273510>
19. Liu X, Meng H, Guo Q, Sun B, Zhang K, Yu W, et al. Tissue-derived scaffolds and cells for articular cartilage tissue engineering: characteristics, applications and progress. *Cell Tissue Res*. 2018;372(1):13–22. PMID: 29368258 <https://doi.org/10.1007/s00441-017-2772-z>
20. Triche R, Mandelbaum BR. Overview of cartilage biology and new trends in cartilage stimulation. *Foot and Ankle Clinics*. 2013;18(1):1–12. PMID: 23465945 <https://doi.org/10.1016/j.fcl.2012.12.001>
21. Lamplot JD, Schafer KA, Mataava MJ. Treatment of failed articular cartilage reconstructive procedures of the knee: a systematic review. *Orthop J Sports Med*. 2018;6(3):2325967118761871. PMID: 29619397 <https://doi.org/10.1177/2325967118761871>
22. Landells JW. The reactions of injured

- human articular cartilage. *J Bone Joint Surg Br.* 1957;39-B(3):548–562. PMID: 13463046 <https://doi.org/10.1302/0301-620X.39B3.548>
- 23.** Cheng A, Schwartz Z, Kahn A, Li X, Shao Z, Sun M, et al. Advances in porous scaffold design for bone and cartilage tissue engineering and regeneration. *Tissue Eng Part B Rev.* 2019;25(1):14–29. PMID: 30079807 <https://doi.org/10.1089/ten.TEB.2018.0119>
- 24.** Steadman JR, Rodkey WG, Briggs KK. Microfracture: its history and experience of the developing surgeon. *Cartilage.* 2010;1(2):78–86. PMID: 26069538 <https://doi.org/10.1177/1947603510365533>
- 25.** Nover AB, Stefani RM, Lee SL, Ateshian GA, Stoker AM, Cook LG, et al. Long-term storage and preservation of tissue engineered articular cartilage. *J Orthop Res.* 2016;34(1):141–148. PMID: 26296185 <https://doi.org/10.1002/jor.23034>
- 26.** Wright GJ, Brockbank KG, Rahn E, Halwani DO, Chen Z, Yao H. Impact of storage solution formulation during refrigerated storage upon chondrocyte viability and cartilage matrix. *Cells Tissues Organs.* 2014;199(1):51–58. PMID: 25171188 <https://doi.org/10.1159/000363134>
- 27.** Hu Y, Liu X, Liu F, Xie J, Zhu Q, Tan S. Trehalose in biomedical cryopreservation-properties, mechanisms, delivery methods, applications, benefits, and problems. *ACS Biomater Sci Eng.* 2023;9(3):1190–1204. PMID: 36779397 <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.2c01225>
- 28.** Макаров М.С. Влияние высоких концентраций диметилсульфоксида на биологическую активность тромбоцитов человека в плазме. *Медицинский Алфавит. Современная Лаборатория.* 2016;2(13(276)):48–51. Makarov MS. Influence of high dimethylsulfoxide concentrations on human platelets' biological activity in plasma. *Medicinsky Alfabit. Sovremennaya Laboratoriya.* 2016;2(13(276)):48–51. (In Russ.).
- 29.** Tomford WW, Springfield DS, Mankin HJ. Fresh and frozen articular cartilage allografts. *Orthopedics.* 1992;15(10):1183–1188. PMID: 1409128 <https://doi.org/10.3928/0147-7447-19921001-09>
- 30.** Wu K, Yong KW, Ead M, Sommerfeldt M, Skene-Arnold TD, Westover L, et al. Vitrified particulated articular cartilage for joint resurfacing: a swine model. *Am J Sports Med.* 2022;50(13):3671–3680. PMID: 36259633 <https://doi.org/10.1177/03635465221123045>
- 31.** Brockbank KG, Chen ZZ, Song YC. Vitrification of porcine articular cartilage. *Cryobiology.* 2010;60(2):217–221. PMID: 20026102 <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2009.12.003>
- 32.** Yamashita F, Sakakida K, Suzu F, Takai S. The transplantation of an autogeneic osteochondral fragment for osteochondritis dissecans of the knee. *Clin Orthop Relat Res.* 1985;(201):43–50. PMID: 3905131
- 33.** Sriuttha W, Uttamo N, Kongkaew A, Settakorn J, Rattanasalee S, Kongtawelert P, et al. Ex vivo and in vivo characterization of cold preserved cartilage for cell transplantation. *Cell Tissue Bank.* 2016;17(4):721–734. PMID: 27522192 <https://doi.org/10.1007/s10561-016-9577-2>
- 34.** Yu H, Al-Abbasi KK, Elliott JA, McGann LE, Jomha NM. Clinical efflux of cryoprotective agents from vitrified human articular cartilage. *Cryobiology.* 2013;66(2):121–125. PMID: 23291303 <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2012.12.005>
- 35.** Bugbee W. Editorial commentary: osteochondral allografting is a "Kid-Friendly" cartilage repair procedure. *Arthroscopy.* 2021;37(5):1597–1598. PMID: 33896511 <https://doi.org/10.1016/j.arthro.2021.02.027>
- 36.** Malinin T, Temple HT, Buck BE. Transplantation of osteochondral allografts after cold storage. *J Bone Joint Surg Am.* 2006;88(4):762–770. PMID: 16595466 <https://doi.org/10.2106/JBJS.D.0299>
- 37.** Sanz J, Elejabeitia J, Bazán A, García-Tutor E, Paloma V. The viability of cryopreserved onlay cranial bone allografts: a comparative experimental study versus fresh autografts. *Ann Plast Surg.* 1996;36(4):370–379. PMID: 8728579 <https://doi.org/10.1097/00000637-199604000-00008>
- 38.** Rosa SC, Gonçalves J, Judas F, Lopes C, Mendes AF. Assessment of strategies to increase chondrocyte viability in cryopreserved human osteochondral allografts: evaluation of the glycosylated hydroquinone, arbutin. *Osteoarthritis Cartilage.* 2009;17(12):1657–1661. PMID: 19751692 <https://doi.org/10.1016/j.joca.2009.08.016>
- 39.** Fan MC, Wang QL, Sun P, Zhan SH, Guo P, Deng WS, et al. Cryopreservation of autologous cranial bone flaps for cranioplasty: a large sample retrospective study. *World Neurosurg.* 2018;109:e853–e859. PMID: 29107719 <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2017.10.112>
- 40.** ISO 14937:2009(en) Sterilization of health care products – General requirements for characterization of a sterilizing agent and the development, validation and routine control of a sterilization process for medical devices. International Organization for Standardization, 2009. Available at: <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:14937:ed-2:v1:en> [Accessed June 11, 2025].
- 41.** Hunziker R, Lumelsky N, Wang F. Editorial: Scaffolds for regenerative medicine: a special issue of the Annals of Biomedical Engineering. *Ann Biomed Eng.* 2015;43(3):487–488. PMID: 25773983 <https://doi.org/10.1007/s10439-015-1296-5>
- 42.** Bugbee WD, Kolessar DJ, Davidson JS, Gibbon AJ, Lesko JP, Cosgrove KD. Single use instruments for implanting a contemporary total knee arthroplasty system are accurate, efficient, and safe. *J Arthroplasty.* 2021;36(1):135–139.e2. PMID: 32800434 <https://doi.org/10.1016/jarth.2020.07.025>
- 43.** Hunziker EB, Lippuner K, Keel MJ, Shintani N. An educational review of cartilage repair: precepts & practice – myths & misconceptions – progress & prospects. *Osteoarthritis Cartilage.* 2015;23(3):334–350. PMID: 25534362 <https://doi.org/10.1016/j.joca.2014.12.011>
- 44.** Wongin S, Wangdee C, Nantavisai S, Banlunara W, Nakbunnum R, Waikakul S, et al. Evaluation of osteochondral-like tissues using human freeze-dried cancellous bone and chondrocyte sheets to treat osteochondral defects in rabbits. *Biomater Sci.* 2021;9(13):4701–4716. <https://doi.org/10.1039/d1bm00239b>
- 45.** Jackson DW, Windler GE, Simon TM. Intraarticular reaction associated with the use of freeze-dried, ethylene oxide-sterilized bone-patella tendon-bone allografts in the reconstruction of the anterior cruciate ligament. *Am J Sports Med.* 1990;18(1):1–10. PMID: 2301680 <https://doi.org/10.1177/03635465900180010>
- 46.** Brunner G. Applications of Supercritical Fluids. *Annu Rev Chem Biomol Eng.* 2010;1:321–342. PMID: 22432584 <https://doi.org/10.1146/annurev-chem-bioeng-073009-101311>
- 47.** Bui D, Lovric V, Oliver R, Bertollo N, Broe D, Walsh WR. Meniscal allograft sterilisation: Effect on biomechanical and

- histological properties. *Cell Tissue Bank.* 2015;16(3):467–475. PMID: 25589449 <https://doi.org/10.1007/s10561-014-9492-3>
- 48.** Будаев А.А., Боровкова Н.В., Файн А.М., Николаев А.Ю., Макаров М.С., Сторожева М.В. и др. Оценка эффективности стерилизации аллогенных трансплантатов сухожилий сверхкритическим диоксидом углерода. *Вестник медицинского института "РЕАВИЗ": реабилитация, врач и здоровье.* 2023;13(4):145–153.
- Budaev AA, Borovkova NV, Fayn AM, Nikolaev AYu, Makarov MS, et al. Evaluation of the effectiveness of allogeneic tendon graft sterilization with supercritical carbon dioxide. *Bulletin of the Medical Institute "REAVIZ" (Rehabilitation, Doctor and Health).* 2023;13(4):145–153. (In Russ.). <https://doi.org/10.20340/vmivz.2023.4.TX.2>
- 49.** Santos-Rosales V, Magariños B, Starbird R, Suárez-González J, Fariña J, Alvarez-Lorenzo C, et al. Supercritical CO₂ technology for one-pot foaming and sterilization of polymeric scaffolds for bone regeneration. *Int J Pharm.* 2021;605:120801. PMID: 34139307 <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120801>
- 50.** White A, Burns D, Christensen TW. Effective terminal sterilization using supercritical carbon dioxide. *J Biotechnol.* 2006;123(4):504–515. PMID: 16497403 <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2005.12.033>

Информация об авторах

**Антон Аркадьевич
Будаев**

научный сотрудник отделения биотехнологий и трансфузиологии ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», <https://orcid.org/0000-0002-5864-5683>, budaevaa@sklif.mos.ru
25% – разработка дизайна исследования, получение данных для анализа, написание текста рукописи

**Максим Сергеевич
Макаров**

д-р биол. наук, старший научный сотрудник отделения биотехнологий и трансфузиологии ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», <https://orcid.org/0000-0002-2184-2982>, makarovms@sklif.mos.ru
25% – разработка дизайна исследования, анализ полученных данных, написание текста рукописи, подготовка обзора публикаций

**Наталья Валерьевна
Боровкова**

д-р мед. наук, заведующая научным отделением биотехнологий и трансфузиологии ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»; доцент кафедры трансплантологии и искусственных органов им. В.П. Демихова МБФ ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ (Пироговский Университет); доцент кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом лабораторной иммунологии ФГБОУ ДПО РМАНПО МЗ РФ, <https://orcid.org/0000-0002-8897-7523>, borovkovany@sklif.mos.ru
25% – разработка дизайна исследования, анализ полученных данных, редакция текста рукописи

**Андрей Аркадьевич
Офицеров**

научный сотрудник отделения биотехнологий и трансфузиологии ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», <https://orcid.org/0000-0003-2170-0009>, ofitserovaa@sklif.mos.ru
10 % – анализ данных

**Иван Николаевич
Пономарев**

канд. мед. наук, старший научный сотрудник отделения биотехнологий и трансфузиологии ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», <https://orcid.org/0000-0002-2523-6939>, ponoparevin@sklif.mos.ru
10 % – анализ данных

**Ирина Юрьевна
Мигулева**

д-р мед. наук, старший научный сотрудник отделения неотложной травматологии опорно-двигательного аппарата ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», <https://orcid.org/0000-0002-6894-1427>, migulevai@sklif.mos.ru
5 % – анализ данных

Information about the authors**Anton A. Budaev**

Researcher, Scientific Department of Biotechnologies and Transfusiology, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, <https://orcid.org/0000-0002-5864-5683>, budaeva@sklif.mos.ru
25%, development of the study design, data collection, writing the manuscript

Maksim S. Makarov

Dr. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Scientific Department of Biotechnologies and Transfusiology, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, <https://orcid.org/0000-0002-2184-2982>, makarovms@sklif.mos.ru
25%, development of the study design, data analysis, writing the manuscript, preparing the review of publications

Natalya V. Borovkova

Dr. Sci. (Med.), Head of the Scientific Department of Biotechnologies and Transfusiology, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine; Associate Professor of the V.P. Demikhov Department of Transplantology and Artificial Organs, N.I. Pirogov Russian National Research Medical University (Pirogov University); Associate Professor of the Department of Clinical Laboratory Diagnostics with a Course in Laboratory Immunology, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, <https://orcid.org/0000-0002-8897-7523>, borovkovanv@sklif.mos.ru
25%, development of the study design, data analysis, manuscript editing

Andrey A. Ofitserov

Researcher, Scientific Department of Biotechnologies and Transfusiology, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, <https://orcid.org/0000-0003-2170-0009>, ofitserovaa@sklif.mos.ru
10%, data analysis

Ivan N. Ponomarev

Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Scientific Department of Biotechnologies and Transfusiology, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, <https://orcid.org/0000-0002-2523-6939>, ponomarevin@sklif.mos.ru
10%, data analysis

Irina Yu. Miguleva

Dr. Sci. (Med.), Senior Researcher, Department of Emergency Traumatology of the Musculoskeletal System, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, <https://orcid.org/0000-0002-6894-1427>, migulevaiu@sklif.mos.ru
5%, data analysis

Статья поступила в редакцию 30.06.2025;
одобрена после рецензирования 14.07.2025;
принята к публикации 25.09.2025

*The article was received on June 30, 2025;
approved after reviewing on July 14, 2025;
accepted for publication on September 29, 2025*