

<https://doi.org/10.23873/2074-0506-2022-14-3-312-321>

Выбор оптимального криоконсерванта для длительного хранения аллотрансплантатов сухожилий человека

А.А. Будаев^{✉1}, Н.В. Боровкова¹, А.М. Файн^{1,2}, М.С. Макаров¹,
М.В. Сторожева¹, Ю.В. Андреев¹, А.С. Миронов¹

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

² Кафедра травматологии, ортопедии и медицины катастроф
ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова МЗ РФ,
127473, Россия, Москва, Делегатская ул., д. 20, 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. Трансплантаты сухожилий широко востребованы в реконструктивно-пластической хирургии. Аллогенные сухожилия потенциально имеют ряд преимуществ, однако методика длительного хранения аллогенных сухожилий на сегодняшний день не оптимизирована.

Цель. Выбор оптимального криоконсерванта для хранения аллотрансплантатов сухожилий человека в условиях сверхнизких температур, позволяющего сохранить нативную структуру ткани.

Материал и методы. В работе использовали трансплантаты сухожилий *m. tibialis anterior*, забранных от доноров тканей. В процессе криоконсервирования использовали эндоцеллюлярные/проникающие криопротекторы (диметилсульфоксид, полиэтиленгликоль-400, глицерол) и экзоцеллюлярные/непроникающие криопротекторы (раствор глюкозы, раствор альбумина). Для оценки сохранности сухожилий определяли свойства трансплантатов на разрыв и растяжение-сдвиг, микроскопически оценивали общую морфологию сухожилий, топографию, компактизацию и целостность коллагеновых волокон, сохранность клеточных элементов.

Результаты. Гистологический анализ показал, что сохранность коллагеновых и эластиновых волокон различалась в зависимости от используемого криопротектора. При этом во всех опытах микроскопически выявлялись микроразрывы коллагеновых волокон. В присутствии диметилсульфоксида, полиэтиленгликоля-400 и их комбинации структура коллагеновых волокон и клеток не претерпевала видимых изменений по сравнению с контролем, тогда как во всех опытах с непроникающими криоконсервантами топография и ориентация волокон были явно нарушены, наблюдалась деформация многих клеток в составе сухожилий.

Выводы. Криопротекторы на основе диметилсульфоксида, полиэтиленгликоля и их комбинации позволяют сохранить структурную целостность аллогенных сухожилий при криоконсервировании. Непроникающие криопротекторы не позволяют сохранить целостность коллагеновых волокон и клеток в составе сухожилий и не могут быть рекомендованы для криохранения.

Ключевые слова: криоконсервант, сухожилие, заморозка, аллотрансплантат

Конфликт интересов Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Финансирование Исследование проводилось без спонсорской поддержки

Для цитирования: Будаев А.А., Боровкова Н.В., Файн А.М., Макаров М.С., Сторожева М.В., Андреев Ю.В. и др. Выбор оптимального криоконсерванта для длительного хранения аллотрансплантатов сухожилий человека. *Трансплантология*. 2022;14(3):312–321. <https://doi.org/10.23873/2074-0506-2022-14-3-312-321>

Selection of an optimal cryoprotectant for long-term storage of human tendon allografts

A.A. Budaev^{✉1}, N.V. Borovkova¹, A.M. Fayn^{1,2}, M.S. Makarov¹,
M.V. Storozheva¹, Yu.V. Andreev¹, A.S. Mironov¹

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

² Department of Traumatology, Orthopedics, and Disaster Medicine,
A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry,
20 Bldg. 1 Delegatskaya St., Moscow 127473 Russia

✉Corresponding author: Anton A. Budaev, Researcher, Department of Biotechnologies and Transfusiology,
N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, BudaevAA@sklif.mos.ru

Abstract

Introduction. Tendon grafts are widely demanded in reconstructive plastic surgery. Allogeneic tendons potentially have a number of advantages. However, the method of long-term storage of allogeneic tendons has not been optimized to date.

Aim. Selection of an optimal cryoprotectant for the storage of human tendon allografts at ultra-low temperatures, which allows preserving the native tissue structure.

Material and methods. We studied M. tibialis anterior tendon grafts taken from tissue donors. Endocellular/penetrating cryoprotectants (dimethyl sulfoxide, polyethylene glycol-400, glycerol) and exocellular/non-penetrating cryoprotectants (glucose solution, albumin solution) were used in the cryopreservation process. Tendon mechanical properties were evaluated using rupture and stretching-shear test, the general morphology of tendons, topography, dense and integrity of collagen fibers, preservation of cellular elements were microscopically evaluated.

Results. Histological analysis showed that the safety of collagen and elastin fibers differed depending on the cryoprotectant used. At the same time, micro-fractures of collagen fibers were microscopically detected in all the experiments. In the presence of dimethyl sulfoxide, polyethylene glycol-400 and their combination the structure of collagen fibers and cells did not undergo visible changes compared to the control, whereas in all the experiments with non-penetrating cryoprotectants the topography and orientation of the fibers were clearly disturbed, deformation of many cells in the tendons was also observed.

Conclusions. Cryoprotectants based on dimethyl sulfoxide, polyethylene glycol and their combinations allowed us to preserve the structural integrity of allogeneic tendons. Non-penetrating cryoprotectants did not effectively preserve the integrity of collagen fibers and cells in the tendons and cannot be recommended for cryopreservation.

Keywords: cryopreservant, tendon, freezing, allograft

CONFLICT OF INTERESTS Authors declare no conflict of interest

FINANCING The study was performed without external funding

For citation: Budaev AA, Borovkova NV, Fayn AM, Makarov MS, Storozheva MV, Andreev YuV, et al. Selection of an optimal cryoprotectant for long-term storage of human tendon allografts. *Transplantologiya. The Russian Journal of Transplantation*. 2022;14(3):312–321. (In Russ.). <https://doi.org/10.23873/2074-0506-2022-14-3-312-321>

ДМСО – диметилсульфоксид
ММСК – мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки

ПЭГ – полиэтиленгликоль
ЦКМ – целостность клеточных мембран

Введение

Проблема консервирования аллогенных тканей человека вызывает все больший интерес, как с практической, так и с научной точки зрения. Основной задачей консервирования является продолжительное хранение трансплантатов, позволяющее сохранить нативную структуру ткани [1]. При консервировании аллогенных тканей, не содержащих живых клеток (кость,

твердая оболочка головного мозга, перикард), целью всех методик является сохранение общей топографии ткани и ее механических свойств [2]. Консервирование тканей, содержащих жизнеспособные клетки (сухожилия, хрящи, кожа), требует гораздо более деликатного подхода и является технологически более сложным [3]. Этим объясняется тот факт, что на сегодняшний день не существует по-настоящему эффективных методик длительного хранения аллогенных

Материал и методы

сухожилий. Трансплантаты сухожилий широко востребованы в реконструктивно-пластической хирургии [4], при этом по сравнению с аутологичным материалом использование аллогенных сухожилий имеет ряд преимуществ: отсутствие травмирования донорского участка, уменьшение времени хирургического вмешательства, снижение послеоперационной боли, возможность заблаговременного производства трансплантатов нужного размера [5, 6]. Для сохранения функциональных и биомеханических свойств в сухожилиях должны постоянно присутствовать жизнеспособные клетки, осуществляющие синтез внеклеточного матрикса сухожилий – в первую очередь, коллагена. В связи с этим методики консервирования бесклеточных коллагеновых матриксов, широкодоступные в клинической практике, являются неприемлемыми в работе с трансплантатами сухожилий [7]. На сегодняшний день единственным адекватным подходом к длительному хранению сухожилий является их криоконсервирование. В процессе работы с трансплантатами сухожилий необходимо учитывать следующие факторы: соблюдение стерильности, предотвращение аутолиза, сохранение пластических, структурных и функциональных свойств [8].

При исследовании трансплантатов сухожилий необходимо проводить комплексное исследование, которое включает морфологический анализ клеток и волокон в составе сухожилий, а также их биомеханические свойства [9].

Целью данной работы является выбор оптимального криоконсерванта для хранения аллотрансплантатов сухожилий человека в условиях сверхнизких температур, позволяющего сохранить нативную структуру ткани.

В экспериментальное исследование включено 80 трансплантатов сухожилий *m. tibialis anterior*, забранных от доноров тканей.

Операцию по эксплантации трансплантатов осуществляли в условиях операционной с соблюдением правил асептики и антисептики. При помощи линейных разрезов по 2 см на передней поверхности голени и стопы в проекции суставной щели голеностопного сустава и энтезисов сухожилий выполняли хирургический доступ. Производили мобилизацию сухожилий, измерение длины и отсекали от мест прикрепления. После чего все трансплантаты механически очищали от смежных тканей, помещали в стерильные пакеты с раствором антибиотика (гентамицин 4% 2 мл или ванкомицин 1000 мг) и до получения результатов анализа на наличие трансмиссивных инфекций карантинизировали при температуре +4°C. Затем сухожилия отмывали в физиологическом растворе хлорида натрия 0,9% в течение 5–10 минут в ламинарном шкафу с соблюдением правил асептики и антисептики. После чего сухожилия закладывали в криопакеты, добавляли 50 мл криоконсервирующего раствора, пакеты запаивали, маркировали и помещали в морозильную камеру при температуре -80°C.

В зависимости от типа криоконсерванта были сформированы четыре группы сравнения: 1-я группа – необработанные, нативные тканевые трансплантаты (контроль), которые не подвергались воздействию криопротекторов и не замораживались. Трансплантаты сухожилий, обработанные проникающими (2-я группа) или непроникающими криопротекторами (3-я группа), а также их комбинацией (4-я группа), которые подвергали заморозке и хранению (таблица).

Все сухожилия 2–4-й групп замораживали и хранили при температуре -80°C в течение 20 суток. После дефростирования сухожилия

Таблица. Типы криопротекторов, используемых для криоконсервирования сухожилий

Table. Types of cryoprotectants used for tendon cryopreservation

1-я группа – без криопротекторов (контроль), 8 шт.	2-я группа – проникающие криопротекторы, 24 шт.	3-я группа – непроникающие криопротекторы, 32 шт.	4-я группа – комбинация криопротекторов, 16 шт.
8 сухожилий <i>m. tibialis anterior dextra et sinistra</i> , не обработанных криоконсервантом и не подвергнутых замораживанию	2.1) 10% раствор ДМСО, 8 шт.	3.1) 10% раствор глюкозы, 8 шт.	10% ПЭГ + 5% ДМСО, 8 шт.
	2.2) 15% раствор ПЭГ-400, 8 шт.	3.2) 15% раствор альбумина, 8 шт.	
	2.3) 10% раствор ПЭГ-400, 8 шт.	3.3) 20% раствор альбумина, 8 шт.	Глицерол 57,1% + 15% ПЭГ-400, 8 шт.
		3.4) 5% раствор глюкозы, 8 шт.	

Примечания: ДМСО – диметилсульфоксид; ПЭГ – полиэтиленгликоль

отмывали изотоническим физиологическим раствором хлорида натрия 0,9%, оценивали их механические свойства, токсичность, а также морфологию на гистологических срезах.

Для оценки механических характеристик все образцы сухожилий тестировали при помощи разрывной машины «Метротекс» с использованием датчика до 70 кг и динамического механического анализатора. Оценивали параметры зависимости нагрузки от растяжения, а также условный модуль деформации. Каждый образец испытывали на разрыв и растяжение-сдвиг не менее 3 раз.

Исследование токсичности трансплантатов сухожилий проводили в культуре мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) костного мозга тканевых доноров 3–9-го пассажа. Фрагменты трансплантатов сухожилий длиной 1,0–1,5 см помещали в опытные лунки 6-луночного планшета и вносили суспензию, содержащую 50 тыс. ММСК. Параллельно 50 тыс. ММСК вносили в лунки без трансплантатов сухожилий (контроль). Клетки культивировали в среде Dulbecco's Modified Eagle Medium с добавлением 10% фетальной сыворотки крупного рогатого скота (Gibco, США) при 37°C и концентрации CO₂ 5% в течение 3 суток. Для микроскопического анализа клетки окрашивали витальным флуорохромным красителем на основе трипафлавина и родамина С [10]. Оценивали общее число клеток (10³/см²), их морфологию, целостность клеточных мембран (ЦКМ, в баллах).

Для микроскопического анализа тканей из всех трансплантатов отбирали образцы размером 1×1 см, фиксировали 10% раствором формалина и готовили гистологические препараты по стандартной методике. Парафиновые срезы толщиной 5 мкм изготавливали на ротационном микротоме, окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван-Гизон. Исследовано 88 микропрепаратов, которые изучали светооптически с помощью светового микроскопа Olympus CX21. Кроме того, в гистологических препаратах оценивали уровень автофлуоресценции коллагеновых волокон (λ-возбуждения — 510–560 нм, λ-эмиссии — от 575 нм, время экспозиции — 1 с) по методике, разработанной канд. биол. наук М.С. Макаровым [11].

Результаты

Оценка механических свойств трансплантатов показала, что во всех группах сухожилия

сохраняли целостность при действии силы растяжения и сил, направленных на сжатие-сдвиг. Нужно признать, что в нашей работе величина предельной силы разрыва составляла 50–70 кг, что может быть недостаточным для оценки прочности сухожилий. Тем не менее, во всех экспериментальных группах не наблюдали полного разрыва сухожилий после моделирования трехкратного растяжения образцов с максимальной силой разрывной машины, что указывает на достаточные прочностные характеристики и возможность многократного перерастяжения без нарушения целостности коллагеновых волокон. Из этого следует, что при цикловых многократных силовых воздействиях на образцы трансплантатов сухожилий сохраняется устойчивость механических свойств.

Исследование *in vitro* показало, что все исследуемые типы трансплантатов не оказывали токсического действия на клетки. В контроле и во всех опытных лунках через 3 суток культивирования формировался субконфлюэнтный монослой с плотностью клеток 17–18 тыс./см². ММСК имели характерный веретенообразный вид, уровень ЦКМ во всех опытных составлял 34–36 баллов и статистически значимо не отличался от аналогичного показателя в контроле. Таким образом, трансплантаты аллогенных сухожилий после криоконсервирования с использованием разных видов криопротекторов были нетоксичны.

Гистологический анализ показал, что сохранность коллагеновых и эластиновых волокон различалась в зависимости от выбранного криопротектора. В опытах, где использовали проникающие криоконсерванты ДМСО 10%, ПЭГ-400 10% и 15%, общая архитектура волокон (их ориентация, взаимодействие друг с другом и с клетками) не претерпевала видимых изменений по сравнению с контролем (рис. 1А, 1В). При использовании непроникающих криоконсервантов (3-я группа) топография и ориентация волокон были нарушены (рис. 1С). Морфологическое строение сухожилия после криоконсервирования в комбинации криопротекторов ДМСО и ПЭГ-400 (4-я группа) было мало отличимо от нативного сухожилия, волокна организованы, однонаправлены, незначительно отечны с минимальным количеством участков разрыва ткани (рис. 1D). Напротив, комбинация глицерола с ПЭГ-400 отличалась гистологически по сравнению с контрольными образцами, волокна были отечны, прослойки рыхлой волокнистой соединительной ткани между пуч-

ками (перитеноний) были расширены, участки разрывов ткани наблюдали по всему препарату.

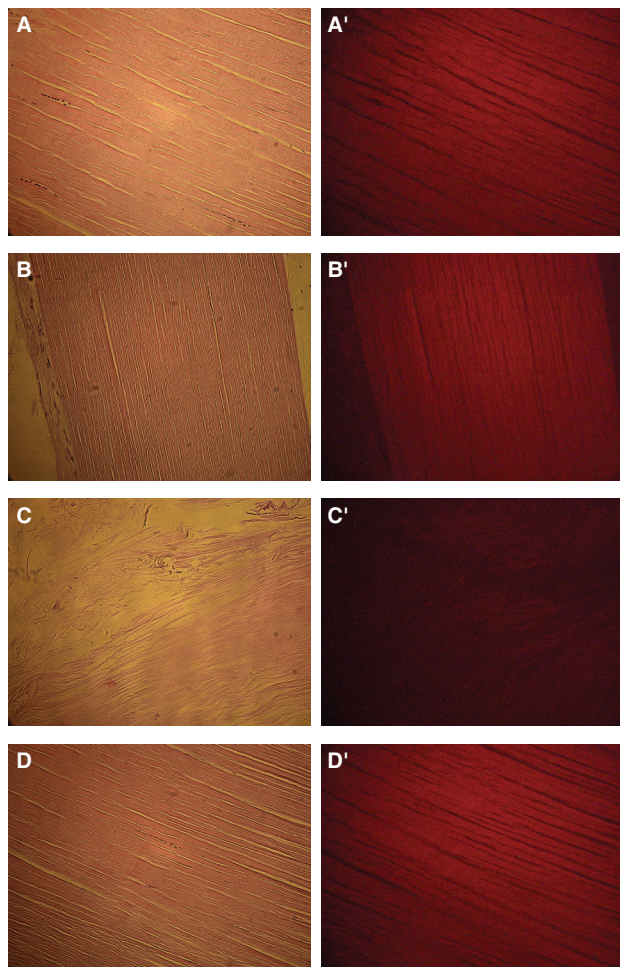


Рис. 1. Оценка сохранности коллагеновых волокон после криоконсервирования аллогенных сухожилий разными способами. Слева – окраска гематоксилин-эозином, справа – автофлуоресценция коллагена. Увеличение $\times 200$. А, А' – контроль (нативные сухожилия); В, В' – 2-я группа (проникающие криопротекторы) на примере 10% раствора диметилсульфоксида; С, С' – 3-я группа (непроникающие криопротекторы) на примере 20% раствора альбумина; D, D' – 4-я группа (комбинация криопротекторов) на примере раствора диметилсульфоксида и полиэтиленгликоля-400

Fig. 1. Evaluation of collagen fiber integrity after cryopreservation of allogeneic tendons by various methods. On the left, hematoxylin-eosin staining; on the right, collagen autofluorescence. Magnification $\times 200$. A, A' – control (native tendons); B, B' – 2nd group (penetrating cryoprotectants) using as an example 10% dimethyl sulfoxide solution; C, C' – 3rd group (non-penetrating cryoprotectants) using as an example 20% albumin solution; D, D' – 4th group (combination of cryoprotectants) using as an example a solution of dimethyl sulfoxide and polyethylene glycol-400

Микроскопические разрывы коллагеновых волокон наблюдали во всех группах, кроме контрольной. В опытах, где использовали ДМСО, ПЭГ-400, средняя ширина разрывов составляла не более 25 мкм (рис. 2А), в то время как в опытах с растворами глюкозы и альбумина ширина разрыва волокон превышала 40 мкм (рис. 2В). При выборе комбинации криопротекторов также отмечали наличие разрывов волокон в образцах сухожилий. При этом комбинация ПЭГ с ДМСО оказалась предпочтительнее (рис. 2С). Повреждение волокон было единичным, а ширина разрывов не превышала 25 мкм. При использовании глицерола 57,1% в комбинации с ПЭГ-400 по всей ширине коллагеновых волокон отмечали множественные разрывы размером от 40 до 70 мкм, морфологически структура плотной волокнистой соединительной ткани была нарушена, наблюдали отек коллагеновых волокон.

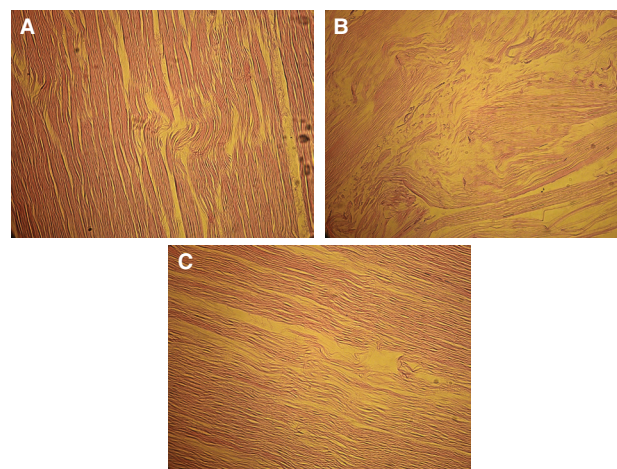


Рис. 2. Выявление разрывов коллагеновых волокон в аллогенных сухожилиях после криоконсервирования. Окраска гематоксилин-эозином, справа – автофлуоресценция коллагена. Увеличение $\times 200$. А – 2-я группа (проникающие криопротекторы) на примере 10% раствора диметилсульфоксида; В – 3-я группа (непроникающие криопротекторы) на примере 20% раствора альбумина. С – 4-я группа (комбинация криопротекторов) на примере раствора диметилсульфоксида и полиэтиленгликоля-400

Fig. 2. Detection of ruptures of collagen fibers in allogeneic tendons after cryopreservation. On the left, hematoxylin-eosin staining; on the right, collagen autofluorescence. Magnification $\times 200$. A – 2nd group (penetrating cryoprotectants) using as an example a 10% solution of dimethyl sulfoxide; B – 3rd group (non-penetrating cryoprotectants) using as an example a 20% albumin solution. C – 4th group (combination of cryoprotectants) using as an example a solution of dimethyl sulfoxide and polyethylene glycol-400

Интенсивность флуоресценции коллагена по всей длине волокон соответствовала норме в контроле и в опытах с 10% ДМСО и ПЭГ – 400

(2-я группа), составляя в среднем 39 ± 2 фут-кандел (рис. 1B'). В группе с использованием комбинации ПЭГ-400 с ДМСО (4-я группа) в большинстве своем волокна имели нормальную яркость свечения и составляли в среднем 35 ± 2 фут-кандел (рис. 1D'). Напротив, в 3-й группе значительная часть волокон имела очень низкую яркость (от 7 до 15 фут-кандел), среднее значение автофлуоресценции составило 19 ± 1 фут-кандел (рис. 1C'). Одновременно в трансплантатах 3-й группы наблюдали выраженную деконденсацию коллагеновых волокон с распадом на отдельные фибриллы.

Во всех группах, включая контроль, отмечены зоны с выраженным отеком волокон, наиболее обширными такие участки отмечали при использовании альбумина 15 и 20%. Отечность волокон может быть связана с периодом карантинизации, когда сухожилия находились в растворе антибиотика в течение 24 часов. Отечность волокон не сопровождалась нарушением структуры коллагена. Во всех образцах не было выявлено волокон с интенсивностью свечения свыше 60 фут-кандел (пикринофильные волокна с выраженными признаками химического разрушения коллагена). Морфология тендиноцитов в контроле, во 2-й и 4-й группах была нормальной, тогда как в 3-й группе наблюдали сморщивание многих клеток и деформацию их ядра (рис. 3A–D).

Заключение

Таким образом, успех клинического применения аллотрансплантатов для пластики связочного аппарата человека во многом обусловлен выбором метода консервирования сухожилий. Коллаген обладает высокой способностью к самоорганизации и аутогезии [12], в то же время для долгосрочного хранения сухожилий, которое позволит не повреждать структуры ткани необходим правильно подобранный консервант [13]. В этой связи наиболее перспективным методом сохранения нативной структуры сухожилий, с нашей точки зрения, является консервирование в условиях сверхнизких температур с применением криопротекторов. Однако проанализировав данные мировой литературы, можно утверждать, что не существует общепринятых методик консервирования сухожилий, а значит эта тема до сих пор актуальна и требует дальнейшего изучения [14]. По результатам проведенного эксперимента можно сказать, что наиболее предпочтительным является использование проникающих криокон-

сервантов или их комбинация. Использование непроникающих криопротекторов, таких как альбумин или глюкоза не позволяет сохранить как целостность коллагеновых волокон, так и сохранность клеточных элементов плотной волокнистой соединительной ткани.

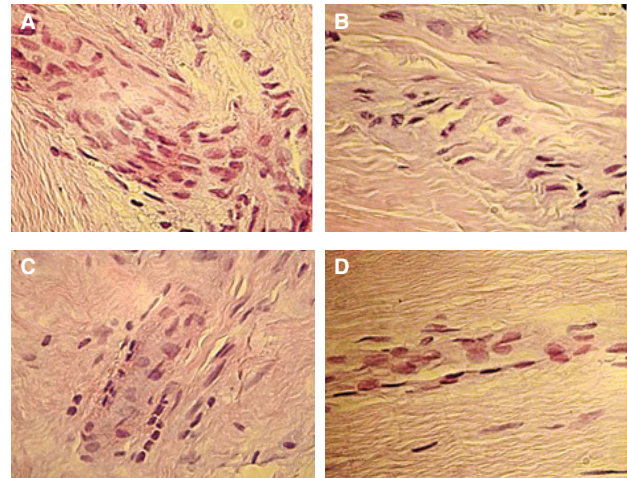


Рис. 3. Оценка клеточного компонента аллогенных сухожилий после криоконсервирования разными способами. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение $\times 500$. А – контроль (нативное сухожилие); В – 2-я группа (проникающие криопротекторы) на примере 10% раствора диметилсульфоксида; С – 3-я группа (непроникающие криопротекторы) на примере 15% раствора альбумина; D – 4-я группа (комбинация криопротекторов) на примере раствора диметилсульфоксида и полиэтиленгликоля-400

Fig. 3. Evaluation of the cellular component of allogeneic tendons after cryopreservation by various methods. Hematoxylin-eosin staining. Magnification $\times 500$. A – control (native tendon); B – 2nd group (penetrating cryoprotectants) using as an example a 10% dimethyl sulfoxide solution; C – 3rd group (non-penetrating cryoprotectants) using as an example a 15% albumin solution; D – 4th group (combination of cryoprotectants) using as an example a solution of dimethyl sulfoxide and polyethylene glycol-400

Выводы

1. Непроникающие криопротекторы не позволяют сохранить целостность коллагеновых волокон и клеток в составе сухожилий и не могут быть рекомендованы для криохранения.

2. Проникающие криоконсерванты (10% раствор диметилсульфоксида и полиэтиленгликоля-400, а также комбинация 10% полиэтиленгликоля + 5% диметилсульфоксида) наиболее бережно сохраняют структуру коллагеновых волокон и клеточных компонентов, при этом не влияя на механические характеристики ткани, а следовательно, могут быть рекомендованы как оптимальные консервирующие растворы для длительного хранения нативных сухожилий.

Список литературы

1. Канюков В.Н., Подопригора Р.Н., Трубина О.М., Тайгузин Р.Ш., Стрекаловская А.Д. *Методы консервации донорских тканей в офтальмологии: учебное пособие*. Оренбург; 2009.
2. Oswald I, Rickert M, Brüggemann GP, Niehoff A, Fonseca Ulloa CA, Jahnke A. The influence of cryopreservation and quick-freezing on the mechanical properties of tendons. *J Biomech.* 2017;64:226–230. PMID: 28893393 <https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2017.08.018>
3. Тесевич Л.И., Барьяш В.В. *Пластическое возмещение дефектов и деформаций челюстно-лицевой области свободной пересадкой тканей: учеб.-метод. пособие*. Минск: БГМУ; 2010.
4. Youngstrom DW, Barrett JG. Barrett engineering tendon: scaffolds, bioreactors, and models of regeneration. *Stem Cells Int.* 2016;2016:3919030. PMID: 26839559 <https://doi.org/10.1155/2016/3919030>
5. Xu Y, Duan D, He L, Ouyang L. Suture anchor versus allogenic tendon suture in treatment of Haglund syndrome. *Med Sci Monit.* 2020;26:e927501. PMID: 33208723 <https://doi.org/10.12659/MSM.927501>
6. Biz C, Cigolotti A, Zonta F, Belluzzi E, Ruggieri P. ACL reconstruction using a bone patellar tendon bone (BPTB) allograft or a hamstring tendon autograft (GST): a single-center comparative study. *Acta Biomed.* 2019;90(12–S):109–117. PMID: 31821294 <https://doi.org/10.23750/abm.v90i12-S.8973>
7. Шангина О.Р., Хасанов Р.А., Булгакова Л.А., Мусина Л.А. Сравнительная характеристика фиброархитектоники и прочностных свойств лиофилизированных аллотрансплантатов с различным типом волокнистого остова. *Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова.* 2015;22(1):12–17. <https://doi.org/10.17816/vto201522112-17>
8. Коваленко П.П., Кристостурян Р.О. *Леофилизация и трансплантация тканей: учебно-методическое руководство*. Ростов-на-Дону; 1970.
9. Lee AH, Elliott DM. Freezing does not alter multiscale tendon mechanics and damage mechanisms in tension. *Ann NY Acad Sci.* 2017;1409(1):85–94. PMID: 29068534 <https://doi.org/10.1111/nyas.13460>
10. Макаров М.С., Хватов В.Б., Конюшко О.И., Сторожева М.В., Боровкова Н.В., Пономарев И.Н. *Метод морфофункциональной оценки клеточного компонента биотрансплантатов*. Патент № 2484472 Российская Федерация, МПК51 G01N 33/48 (2006.01); 2012114625/15. Заявлено 13.04.2012; опубликовано 10.06.2013. Бюллетень № 16. URL: <https://findpatent.ru/patent/248/2484472.html> [Дата обращения 6 июля 2022 г.].
11. Макаров М.С., Сторожева М.В., Боровкова Н.В. Значение автофлюоресценции коллагеновых волокон для оценки биологических свойств тканевых трансплантатов. *Современные технологии в медицине.* 2017;9(2):83–90.
12. Buehler MJ. Nature designs tough collagen: Explaining the nano-structure of collagen fibrils. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006;103(33):12285–12290. PMID: 16895989 <https://doi.org/10.1073/pnas.0603216103>
13. McClelland R, Dennis R, Reid LM, Palsson B, Macdonald JM. Tissue engineering. In: *Introduction to biomedical engineering (Second Edition)*. Elsevier: Biomedical Engineering; 2005. p. 313–402. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-238662-6.50009-4>
14. Chaudhury S, Murphy RJ, Carr Tendon AJ. Tendon tissue engineering: the potential application of stem cells, biological factors, and repair scaffolds to improve rotator cuff tendon tears. In: *Comprehensive Biotechnology (Second Edition)*. Academic Press; 2011. Vol. 5. p. 291–310. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-088504-9.00511-0>

References

1. Kanyukov VN, Podoprigora RN, Trubina OM, Tayguzin RSh, Strekalovskaya AD. *Metody konservatsii donorskikh tkaney v oftal'mologii: uchebnoe posobie*. Orenburg; 2009. (In Russ.).
2. Oswald I, Rickert M, Brüggemann GP, Niehoff A, Fonseca Ulloa CA, Jahnke A. The influence of cryopreservation and quick-freezing on the mechanical properties of tendons. *J Biomech*. 2017;64:226–230. PMID: 28893393 <https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2017.08.018>
3. Tesevich LI, Baryash VV. *Plasticheskoe vozmeshchenie defektov i deformatsiy chelyustno-litsevoy oblasti svobodnoy peresadkoy tkaney: ucheb.-metod. posobie*. Minsk: BGMU Publ.; 2010. (In Russ.).
4. Youngstrom DW, Barrett JG. Barrett engineering tendon: scaffolds, bioreactors, and models of regeneration. *Stem Cells Int*. 2016;2016:3919030. PMID: 26839559 <https://doi.org/10.1155/2016/3919030>
5. Xu Y, Duan D, He L, Ouyang L. Suture anchor versus allogenic tendon suture in treatment of Haglund syndrome. *Med Sci Monit*. 2020;26:e927501. PMID: 33208723 <https://doi.org/10.12659/MSM.927501>
6. Biz C, Cigolotti A, Zonta F, Belluzzi E, Ruggieri P. ACL reconstruction using a bone patellar tendon bone (BPTB) allograft or a hamstring tendon autograft (GST): a single-center comparative study. *Acta Biomed*. 2019;90(12–S):109–117. PMID: 31821294 <https://doi.org/10.23750/abm.v90i12-S.8973>
7. Shangina OR, Khasanov RA, Bulgakova LA, Musina LA. Comparison of Fibroarchitectonics and strength properties preservation criteria of lyophilized allografts with different type of fibrous framework. *N.N. Priorov journal of traumatology and orthopedics*. 2015;22(1):12–17. (In Russ.). <https://doi.org/10.17816/vto201522112-17>
8. Kovalenko PP, Kristosturyan RO. *Liofilizatsiya i transplantatsiya tkaney: uchebno-metodicheskoe rukovodstvo*. Rostov-na-Donu; 1970. (In Russ.).
9. Lee AH, Elliott DM. Freezing does not alter multiscale tendon mechanics and damage mechanisms in tension. *Ann NY Acad Sci*. 2017;1409(1):85–94. PMID: 29068534 <https://doi.org/10.1111/nyas.13460>
10. Makarov MS, Khvatov VB, Konyushko OI, Storozheva MV, Borovkova NV, Ponomarev IN. *Metod morfofunktsional'noy otsenki kletochno-go komponenta biotransplantatov*. Patent № 2484472 Russian Federation, IPC 51 G01N 33/48 (2006.01); 2012114625/15. Stated April 13, 2012; published June 10, 2013. Bull. № 16. Available at: <https://findpatent.ru/patent/248/2484472.html> [Accessed July 6, 2022].
11. Makarov MS, Storozheva MV, Borovkova NV. Collagen fiber autofluorescence level in evaluating the biological properties of tissue grafts. *Modern technologies in medicine*. 2017;9(2):83–90. (In Russ.).
12. Buehler MJ. Nature designs tough collagen: explaining the nano-structure of collagen fibrils. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006;103(33):12285–12290. PMID: 16895989 <https://doi.org/10.1073/pnas.0603216103>
13. McClelland R, Dennis R, Reid LM, Palsson B, Macdonald JM. Tissue engineering. In: *Introduction to biomedical engineering (Second Edition)*. Elsevier: Biomedical Engineering; 2005. p. 313–402. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-238662-6.50009-4>
14. Chaudhury S, Murphy RJ, Carr Tendon AJ. Tendon tissue engineering: the potential application of stem cells, biological factors, and repair scaffolds to improve rotator cuff tendon tears. In: *Comprehensive Biotechnology (Second Edition)*. Academic Press; 2011. Vol. 5. p. 291–310. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-088504-9.00511-0>

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
20% – обработка полученных результатов, написание текста статьи

**Наталья Валерьевна
Боровкова**

д-р мед. наук, заведующая научным отделением биотехнологий и трансфузиологии ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», <https://orcid.org/0000-0002-8897-7523>, BorovkovaNV@sklif.mos.ru
16% – разработка дизайна исследования, редакция и корректировка текста

**Алексей Максимович
Файн**

д-р мед. наук, заведующий научным отделением неотложной травматологии опорно-двигательного аппарата ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»; профессор кафедры травматологии, ортопедии и медицины катастроф ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова» МЗ РФ, <https://orcid.org/0000-0001-8616-920X>, FainAM@sklif.mos.ru
12% – редакция и корректировка текста

**Максим Сергеевич
Макаров**

канд. 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
16% – сбор материала, анализ литературы

**Майя Викторовна
Сторожева**

научный сотрудник отделения биотехнологий и трансфузиологии ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», <https://orcid.org/0000-0003-1927-2404>, StorozhevaMV@sklif.mos.ru
12% – участие в экспериментальной части работы, анализ полученных результатов

**Юлий Вадимович
Андреев**

канд. мед. наук, старший научный сотрудник отделения биотехнологий и трансфузиологии ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», <https://orcid.org/0000-0001-8151-940X>, AndreevUV@sklif.mos.ru
12% – участие в экспериментальной части работы, обработка полученных результатов

**Александр Сергеевич
Миронов**

канд. мед. наук, заведующий отделением консервирования тканей и производства трансплантатов с операционным блоком ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», <https://orcid.org/0000-0001-9592-7682>, MironovAS@sklif.mos.ru
12% – редакция и корректировка текста

Information about the authors

Anton A. Budaev	Researcher, Department of Biotechnologies and Transfusiology, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, https://orcid.org/0000-0002-5864-5683 , BudaevAA@sklif.mos.ru 20%, processing of resulting data, text writing
Natalya V. Borovkova	Dr. Sci. (Med.), Head of the Scientific Department of Biotechnologies and Transfusiology, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, https://orcid.org/0000-0002-8897-7523 , BorovkovaNV@sklif.mos.ru 16%, research design development, text editing and proofreading
Aleksey M. Fayn	Dr. Sci. (Med.), Head of the Scientific Department of Emergency Traumatology of the Musculoskeletal System, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine; Professor of the Department of Traumatology, Orthopedics, and Disaster Medicine, A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, https://orcid.org/0000-0001-8616-920X , FainAM@sklif.mos.ru 12 %, text editing and proofreading
Maksim S. Makarov	Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Department of Biotechnologies and Transfusiology, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, https://orcid.org/0000-0002-2184-2982 , MakarovMS@sklif.mos.ru 16%, collection of material, literature analysis
Mayya V. Storozheva	Researcher, Department of Biotechnologies and Transfusiology, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, https://orcid.org/0000-0003-1927-2404 , StorozhevaMV@sklif.mos.ru 12%, participation in the experimental part of the work, analysis of obtained results
Yuliy V. Andreev	Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Department of Biotechnologies and Transfusiology, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, https://orcid.org/0000-0001-8151-940X , AndreevUV@sklif.mos.ru 12%, participation in the experimental part of the work, processing of obtained results
Aleksandr S. Mironov	Cand. Sci. (Med.), Head of the Department of Tissue Preservation and Graft Production with an Operating Unit, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, https://orcid.org/0000-0001-9592-7682 , MironovAS@sklif.mos.ru 12%, text editing and proofreading

Статья поступила в редакцию 30.03.2022;
одобрена после рецензирования 19.04.2022;
принята к публикации 29.06.2022

The article was received on March 30, 2022;
approved after reviewing April 19, 2022;
accepted for publication June 29, 2022