

Статья поступила в редакцию 18.07.2018 г.

Панов А.А., Ланшаков В.А.

НГИУВ – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России,
г. Новокузнецк, Россия

ФАКТОРЫ РОСТА ОБОГАЩЕННОЙ ТРОМБОЦИТАМИ АУТОПЛАЗМЫ В РЕКОНСТРУКТИВНОЙ ИМПЛАНТОЛОГИИ ДЕГЕНЕРАТИВНО–ДИСТРОФИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ СУХОЖИЛИЙ

В статье представлен анализ литературы по лечению повреждений сухожилий в аспектах биоимплантологии, регенеративной медицины, реконструктивной хирургии и выбору оптимального сочетания пластических и биологических материалов для ревитализации сухожилия в ходе реконструктивного лечения.

Заключение. Несмотря на значительные успехи в регенеративной хирургии и биоимплантологии имеется ряд нерешенных вопросов в воссоздании структуры сухожилия, выборе оптимального скаффолда и стимуляторов заживления.

Ключевые слова: дегенеративно-дистрофическое заболевание; скаффолд; обогащенная тромбоцитами аутоплазма; факторы роста.

Panov A.A., Lanshakov V.A.

Novokuznetsk State Institute of Postgraduate Medicine, Novokuznetsk, Russia

PLATELET-RICH PLASMA GROWTH FACTORS IN RECONSTRUCTIVE IMPLANTOLOGY OF MUSCULOSKELETAL DEGENERATIVE-DYSTROPHIC DISEASES

The article presents an analysis of the literature on the treatment of tendon injuries in the aspects of bioimplantology, regenerative medicine, reconstructive surgery and the choice of the optimal combination of plastic and biological materials for tendon revitalization in the course of reconstructive treatment.

Conclusions. Despite significant advances in regenerative surgery and bioimplantology, there are a number of unresolved issues in the reconstruction of the tendon structure, the selection of the optimal scaffold.

Key words: degenerative-dystrophic disease; scaffold; platelet-rich autoplasm; growth factors.

Восстановление дефекта дегенеративно измененного сухожилия до сих пор имеет много нерешенных вопросов. Несмотря на развитие хирургических техник, совершенствование шовного материала, ключевым моментом продолжает оставаться васкуляризация восстанавливаемого участка.

Основные моменты реконструкции сухожилия:

- замещение дефекта,
- воссоздание объема и прочности сухожилия,
- обеспечение ревитализации, реваскуляризация дефекта.

Дегенеративные дистрофические изменения сухожилий осложняют повреждения эффектом «минус-ткани» и затрудняют тенорафию. Возникает необходимость замещения дефекта. Золотой стандарт замещения дефекта сухожилия – аутопластика. Пластика собственными тканями не сопряжена с риском инфекционных или иммунологических реакций. Восполнение дефекта при помощи кровоснабжаемого ауто сухожилия ограничивается локализацией удобных к перемещению участков. Свободный участок перемещаемого сухожилия сохраняет связь между матриксом и клеточными элементами, несет в себе жизнеспособные теноциты, сосуды стромы [12].

Аллосухожилия представляют собой коллагеновый матрикс, в течение 6-8 месяцев подлежащий реваскуляризации и последующей замене на собственную

ткань, однако процедура лиофилизации аллоткани оказывает неоднозначное влияние на структуру аллотрансплантатов [2].

Для успешного кровоснабжения сухожилия важен сохраненный паратенон. Ключевым моментом в восстановлении сухожилия, так или иначе, будет реваскуляризация замещенного дефекта.

С позиции имплантологии, замещаемый дефект ткани восстанавливают при помощи комбинации скаффолда, клеточных компонентов, факторов роста.

Скаффолд, как несущая база для реконструкции, в свою очередь может быть биодеградируемым или биоинертным. В реконструктивных вмешательствах на кости биодеградируемые материалы восполняют дефект, который затем замещается собственной костной тканью (бета-трикальцийфосфат, Chronos). Также для замещения костных дефектов применяется КоллапАн, сочетание гидроксиапатита, коллагена и антимикробных средств [10].

Скаффолд – трехмерная пористая или волокнистая матрица, обеспечивающая механический каркас для клеток [34]. В идеале скаффолд имеет ряд свойств для формирования полноценной замещаемой ткани. Такими свойствами являются: наличие адгезивной поверхности, способствующей пролиферации и дифференцировке клеток; биосовместимость и отсутствие иммунологического отторжения; нетоксичность; биодеградация, скорость которой соответствовала бы росту собственной ткани или биоинертности; оптимальный размер пор для пространственного распределения клеток, васкуляризации, а также диффузии питательных веществ и удаления продуктов жизнедеятельности [34]. Основные материалы для скафф-

Корреспонденцию адресовать:

ПАНОВ Алексей Александрович,
654080, г. Новокузнецк, ул. Кирова, д. 91, кв. 56.
Тел.: 8 (3843) 32-47-41; +7-913-323-98-81.
E-mail: mangust98114@rambler.ru

фолдов — природные полимеры, синтетические полимеры и керамика. При синтезе скаффолда очень редко применяют один материал, чаще используют комбинацию [22].

Для восполнения дефекта кости ее разгружают при помощи металлоконструкций. Для восполнения дефекта сухожилия требуется фиксировать его концы на несколько месяцев. При этом полное выключение подвижности сегмента приводит к контрактурам и гипотрофии. Имобилизация сухожилия должна быть прицельной и позволять стимулировать его васкуляризацию и рост регенерата малыми нагрузками.

В пластике костных дефектов нет единых предпочтений по материалу для замещения, и используется сочетание биодеградируемых материалов-скаффолдов и аутологичных клеток [23].

В настоящее время в биотехнологии и генной инженерии исследуются биоматериалы на основе природных белков, таких как фиброин шелка, спидроин паутины. Привлекает их высокая прочность и способность к биодеградированию [1]. Фиброин шелка рассматривают как вариант покрытия нитей из ПЭТФ или материал для создания протезов сухожилий [32].

Исследуются белки из сочленений прыгательных ног блох и крыла стрекозы, а именно — резилин. Расправляясь, сжатый резилин отдает 97 % запасенной энергии, белок эластин, входящий в состав связок у млекопитающих — 85-90 %, лучшая резина — лишь 80 %. Белок резилин весьма стабилен: он сохраняет свою структуру и свойства и при воздействии низких температур, и при нагревании до 125°C, на его свойства не влияют ни спирты, ни такие сильные денатурирующие агенты, как формалин [17].

Данные исследования являются наукоемкими и трудоемкими, однако демонстрируют возможности генной инженерии и дают перспективы в регенеративной медицине.

У биодеградируемых материалов для сухожилий есть в настоящее время один существенный недостаток: время деградации и характер потери прочности материалом. Процесс потери прочности не контролируется и определяется площадью поверхности шовного материала с кровоснабжаемой тканью. Участки с большей васкуляризацией, таким образом, дадут большую интенсивность потери прочности шовного материала. В ходе заживления шовный материал вместе с сухожилием проходит фазы воспаления, когда альтерация и эксудация сменяются ревазуляризацией. Высок риск формирования несостоятельности сухожилия. Кроме того, белок спидроин в ходе биодеградации образует белок серицин, сильный аллерген для человека и млекопитающих.

Пока синтетических биодеградируемых имплантатов для сухожилий не создано, успешно применяется биоинертный полиэтилентерефталат. Этот не-

рассасывающийся синтетический материал в виде псевдомонофиламентной (плетеной) нити с покрытием из фторкаучука, силикона или полибутилата наиболее часто применяется в качестве шовного для сухожилий под названиями «Фторэст», «Этибонд» или «Суржидак». Бесшовная трубка из полиэтилентерефталатных нитей шахматного плетения представляет собой эндопротез сухожилий и связок (Дона-М) [8]. Полиэтилентерефталат биоинертен, репаративные процессы протекают в непосредственном контакте с его поверхностью. При этом прочностные свойства имплантатов из полиэтилентерефталата позволяют заместить сухожилия с высокой нагрузкой, такие как пяточное, переднюю крестообразную связку [14].

Другой биоинертный материал, применяемый для реконструктивных вмешательств на сухожилиях — сверхэластичный никелид титана.

Основная функция скаффолда в реконструктивной хирургии — заполнение дефекта и создание базы для клеточных компонентов и факторов роста. Микропористая структура никелида титана использовалась в качестве инкубатора клеточной культуры [6], а именно: клетки аллогенного костного мозга, гепатоциты, клетки поджелудочной железы [11]. По сути, конструкция из никелида титана применялась в качестве скаффолда [7]. Резонно было бы предложить использовать микропористую поверхность сверхэластичных имплантатов аналогичным образом.

Получение аутогенных стимуляторов регенерации

Стимуляторы регенерации, применяемые в реконструктивной хирургии, включают костные морфогенетические белки (англ. bone morphogenetic proteins), получаемые с помощью генной инженерии [26], мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК), получаемые из костного мозга, жировой ткани или пульпы зуба [36]. Синтетические материалы по остеоиндуктивным и остеокондуктивным свойствам уступают аутоматериалам и алломатериалам [16]. Таким образом, пластика костных дефектов объединяет сложные технологии, ключевыми компонентами которых являются скаффолды, аутологичные стволовые клетки и биоактивные вещества [18]. Синтез скаффолда — сочетание несущей конструкции с микропористой поверхностью, насыщение скаффолда прогениторными клетками и включение в структуру скаффолда биоактивных веществ — важные моменты биоинженерии. Биоактивные вещества не только индуцируют тканевую дифференцировку, но и привлекают новые стволовые клетки носителя, а также стимулируют ангиогенез. В группу данных веществ входят в основном различные ростовые факторы (TGF- β , в том числе и BMP, IGF, FGF, PDGF, VEGF и др.) [25, 29, 37].

Сведения об авторах:

ПАНОВ Алексей Александрович, канд. мед. наук, доцент, кафедра травматологии и ортопедии, НГИУВ — филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, г. Новокузнецк, Россия. E-mail: mangust98114@rambler.ru

ЛАНШАКОВ Виталий Алексеевич, доктор мед. наук, профессор, зав. кафедрой травматологии и ортопедии, НГИУВ — филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, г. Новокузнецк, Россия.

Ввиду технических сложностей получения таких стимуляторов регенерации рассматриваются материалы менее инвазивные в процедуре получения и менее затратные в процессе подготовки к введению. Более тридцати лет ведутся научные исследования по воздействию тромбоцитарных факторов роста на процессы репаративной регенерации тканей. Костный морфогенетический протеин был получен в Калифорнийском университете менее затратным способом [38], а именно, обогащением аутоплазмы тромбоцитами.

Обогащенная тромбоцитами аутоплазма (ОТП, или англ. PRP, platelet-rich plasma) успешно применялась в кардиохирургии, челюстно-лицевой хирургии, спортивной травматологии, дерматологии. Имеются разработки по замещению дефекта хрящевой и костной ткани [3] и восстановлению сухожилий [13].

Главное свойство аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами — содержание тромбоцитов от 1 млн/мкл [21, 31]. При двухэтапном центрифугировании можно получить концентрацию тромбоцитов выше, но, во-первых, нет достоверных данных положительного эффекта более высокой концентрации тромбоцитов и, во-вторых, доказано, что при двухэтапном центрифугировании ультраструктура тромбоцитов повреждается сильнее, чем при одноэтапном [30]. Существует несколько способов получения PRP, все они сводятся к различиям массы клеток крови и разделению крови под действием центробежной силы при центрифугировании.

PRP содержит факторы роста, адгезивные молекулы и цитокины, стимулирующие репаративные и анаболические процессы в поврежденных тканях, а также обладающие противовоспалительным эффектом. В ходе активации PRP из альфа-гранул тромбоцитов высвобождаются: тромбоцитарный фактор роста (platelet-derived growth factor — PDGF), трансформирующий фактор роста (transforming growth factor beta — TGF- β), фактор роста эпителия (epithelium growth factor — EGF) и фактор роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor — VEGF) [15, 33].

Важно, что все факторы роста влияют на мембранные рецепторы, а не на ядро клетки, поэтому не оказывают канцерогенного действия [31].

Кроме перечисленных факторов роста, в плотных гранулах тромбоцитов содержатся серотонин, гистамин, допамин, АДФ, АТФ, кальций и катехоламины. Серотонин и гистамин привлекают макрофаги; макрофаги, в свою очередь, привлекают стволовые клетки из костного мозга в очаг повреждения [9].

Влияние цитокинов и факторов роста на репаративную регенерацию сухожилия

Органотипическое заживление сухожилия включает два этапа: первый, включающий три фазы — аль-

терации и воспаления (начало — 24 часа с момента травмы или операции), экссудативного воспаления (1-4 суток с момента альтерации) и фибропластическую фазу (5-28 суток с момента альтерации); и второй этап — ремоделирование (29-112 суток) [35].

Начало фазы экссудативного воспаления запускает в очаге повреждения воспаление, в котором принимают участие эндогенные стимуляторы репаративной регенерации сухожильной ткани в эту фазу. К ним относятся цитокины, фактор некроза опухоли, эпидермальный, тромбоцитарный, фибробластический факторы роста, а также умеренные концентрации биологически активных веществ, ионов водорода, полиамины, антикейлоны и др. [27].

Как видно, воздействие на сухожилие обогащенной тромбоцитами аутоплазмы немаловажно для органотипического заживления в первые двое суток после альтерации, вне зависимости от причин, повлекших последнюю: повреждение сухожилия или оперативное вмешательство на поврежденном сухожилии, заживление идет по одному механизму. Фибропластическая фаза, продолжающая заживление, включает интенсивную васкуляризацию регенерата, появление большого количества незрелых фибробластов и трансформацию их в зрелые. Процесс упорядочивания коллагеновых волокон в регенерате идет параллельно снижению экссудативной реакции. Стимуляция ангиогенеза в фибропластической стадии готовит сухожилие к ремоделированию, когда примерно на тридцатые сутки формируется внеклеточный матрикс и упорядочиваются коллагеновые волокна [5].

Соотношение коллагена разных типов определяет саму возможность органотипического заживления сухожилия [20]. Фибриллогенез в стадии ремоделирования в условиях недостатка коллагена VI типа дает большое количество аномальных фибрилл с меньшим диаметром сечения. Формируется сухожилие с меньшей жесткостью, большей эластичностью и риском перерастяжения [27].

Разработка реабилитационных мер и практик для оптимизации стадии ремоделирования сухожилия является важным условием для органотипического заживления сухожилия [4]. Считается, что процесс органотипического заживления заканчивается в среднем к 112 суткам.

Воздействие на органотипическое заживление сухожилия — важный аспект получения состоятельного регенерата.

Если в клеточной терапии скаффолды служат, помимо несущей базы, еще и защитой внедряемых клеток от иммунной системы, для обогащенной тромбоцитами аутоплазмы иммунный конфликт исключен. Биоинертный никелид титана в виде текстильных и вязаных имплантатов действует как пластический материал с эффектом скаффолда.

Information about authors:

PANOV Alexey Aleksandrovich, candidate of medical sciences, docent, department of traumatology and orthopedic surgery, Novokuznetsk State Institute of Postgraduate Medicine, Novokuznetsk, Russia. E-mail: mangust98114@rambler.ru

LANSHAKOV Vitaliy Alekseevich, doctor of medical sciences, professor, head of department of traumatology and orthopedic surgery, Novokuznetsk State Institute of Postgraduate Medicine, Novokuznetsk, Russia.

В литературе неоднократно встречается термин «активация» по отношению к обогащенной тромбоцитами аутоплазме. Описывают активацию как дополнительное введение хлорида кальция (в системе АСР™ от Arthrex), человеческого тромбина (GPS от Biomet) или тромбина животного происхождения (SmartPrep от Harvest Technologies, Plymouth) [19, 24]. Ввиду самопроизвольной активации тромбоцитов в операционном поле, дополнительное введение активирующих агентов не вполне корректно и не является строго необходимым моментом [28].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обогащенная тромбоцитами аутоплазма — несложный в получении материал, успешно применяемый в качестве активатора репаративных процессов тканей с возможностью сочетания с биоинертными

синтетическими материалами. Легкость получения материала без проблем для донорского места или риска инфекционных или иммунных осложнений делает ОТП идеальным материалом для пластики. Сочетание обогащенной тромбоцитами аутоплазмы с текстильными и вязаными имплантатами из никелида титана дает богатые перспективы в лечении дегенеративных дистрофических повреждений сухожилий. Недостаточно изучены отдаленные результаты лечения поврежденных сухожилий, требуются дальнейшие клинические и экспериментальные исследования.

Информация о финансировании и конфликте интересов

Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:

1. Agapova OI. Silk fibroin and spidroin bioengineering constructions for regenerative medicine and tissue engineering (review). *Modern Technologies in Medicine*. 2017; 9(2): 190-206. Russian (Агапова О.И. Биоинженерные конструкции на основе фиброина шелка и спидроина для регенеративной медицины и тканевой инженерии (обзор) //Современные технологии в медицине. 2017. Т. 9, № 2. С. 190-206.)
2. Belousov AE. Plastic, reconstructive and esthetic surgery. SPb.: Hippocrates, 1998. 744 p. Russian (Белусов А.Е. Пластическая, реконструктивная и эстетическая хирургия. — СПб.: Гиппократ, 1998. — 744 с.)
3. Brehov VL. Surgical treatment of patients with chondral and bone tissue defects using platelet-rich plasma: abstract dis ... kand. med. sciences. Kursk, 2007. 20 p. Russian (Брехов В.Л. Хирургическое лечение больных с дефектами костной и хрящевой тканей с применением богатой тромбоцитами аутоплазмы: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Курск, 2007. 20 с.)
4. Gershubrg MI, Popov SN, Ahmida AM. Physical rehabilitation after surgical treatment of calcaneal tendon rupture. *Curative physical training and sports medicine*. 2012; (7): 28-34. Russian (Гершбург М.И., Попов С.Н., Ахмида А.М. Физическая реабилитация после оперативного лечения разрыва ахиллова сухожилия у спортсменов //Лечебная физкультура и спортивная медицина. 2012. № 7. С. 28-34.)
5. Gorbach EN, Matveyeva EL, Romanenko SA, Nakoskina NV, Yemanov AA. Dermal extracellular matrix of experimental animals in Ilizarov technique calf elongation. *Orthopaedic Genius*. 2011; (3): 137-141. Russian (Горбач Е.Н., Матвеева Е.Л., Романенко С.А., Накоскина Н.В., Еманов А.А. Состояние внеклеточного матрикса кожи экспериментальных животных при удлинении голени по Илизарову //Гений ортопедии. 2011. № 3. С. 137-141.)
6. Gunter VE. Shape memory materials in medicine. Tomsk, 2014. 342 p. Russian (Гюнтер В.Э. Материалы с памятью формы в медицине. Томск, 2014. 342 с.)
7. Dambayev GT, Guenther VE, Khodorenko VN, Zagrebini LV, Smolyaninov ES, Cherdyntseva NV et al. Implant for surgical treatment of internal organs diseases: Pat. N 2143867 RF- 23/06/2000. Russian (Дамбаев Г.Ц., Гюнтер В.Э., Ходоренко В.Н., Загребин Л.В., Смольянинов Е.С., Чердынцева Н.В. и др. Имплантат для хирургического лечения заболеваний внутренних органов: Патент 2143867 Рос. Федерация. 2000. Бюл. № 1.)
8. Zagorodnij NV et al. Tendon and ligament endoprosthesis. Pat. N 2289361 RF 20/12/2006. Russian (Загородный Н.В. и др. Эндопротез для замещения поврежденных связок и сухожилий. Патент РФ N 2289361от 20/12/2006.)
9. Kazakova IA. Macrophag Mechanisms of the influence of macrophages on reparative regeneration: abstract dis. ... kand. biol. sciences. Ekaterinburg, 2014. 24 p. Russian (Казакова И.А. Механизмы влияния макрофагов на репаративную регенерацию: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Екатеринбург, 2014. 24 с.)
10. Kesyan GA, Berchenko GN, Urazgil'deev RZ, Mikelaishvili DS, Shulashov BN. Combined application of platelet-rich plasma and biocomposite material collapse in complex treatment of patients with non-united fractures and pseudarthrosis of extremity long bones. *Vestnik travmatologii i ortopedii imeni N.N. Priorova*. 2011; (2): 26-32. Russian (Кесян Г.А., Берченко Г.Н., Уразгильдеев Р.З., Микелаишвили Д.С., Шулашов Б.Н. Сочетанное применение обогащенной тромбоцитами аутоплазмы и биокomпозиционного материала коллапан в комплексном лечении больных с длительно несрастающимися переломами и ложными суставами длинных костей конечностей //Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. 2011. № 2. С. 26-32.)
11. Kokorev OV, Khodorenko VN, Dambaev GT, Gunther VE. Functional characteristics of tissue equivalents of various tissues using porous-permeable incubators of titanium nickelide. *Bulletin of the East Siberian Scientific Center SBRAMS*. 2015; 2(102): 73-79. Russian (Кокорев О.В., Ходоренко В.Н., Дамбаев Г.Ц., Гюнтер В.Э. Функциональная нагрузка тканевых эквивалентов различных тканей с использованием пористо-проницаемых инкубаторов из никелида титана //Бюллетень ВШЦ СО РАМН. 2015. № 2(102). С. 73-79.)
12. Matev IB, Bankov SD. Rehabilitation of injuries of the hands. Sofia: Medicine and physical Education, 1981. 256 p. Russian (Матев И.Б., Банков С.Д. Реабилитация при повреждениях руки. София: Медицина и Физкультура, 1981. 256 с.)
13. Nakhapetyan TG. Experimental-morphological and clinical rationale for the use of platelet-rich autoplasm in surgical treatment of ruptures of the Achilles tendon: abstract dis. ... cand. med. sciences. M., 2013. 26 p. Russian (Нахапетян Т.Г. Экспериментально-морфологическое и клиническое обоснование применения обогащенной тромбоцитами аутоплазмы при хирургическом лечении разрывов ахиллова сухожилия: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2013. 26 с.)

14. Shormanov AM, Bakhteeva NKH, Norkin AI, Sadykov RSh, Chibrikov AG, Schukovskiy VV. The results of synthetic implants application in acl (anterior cruciate ligament) damage treatment. *Modern problems of science and education*. 2015; (5): 345. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=22683>. Russian (Шорманов А.М., Бахтеева Н.Х., Норкин А.И., Садыков Р.Ш., Чибриков А.Г., Щуковский В.В. Результаты применения синтетических имплантов в лечении повреждений передней крестообразной связки //Современные проблемы науки и образования. 2015. № 5; 345. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=22683>.)
15. Antonaides HN, Williams LT. Human platelet-derived growth factor: structure and functions. *Federation Proceedings*. 1983; 42: 2630-2634.
16. Bauer TW, Muschler GF. Bone graft materials. An overview of the basic science. *Clin Orthop Relat Res*. 2000; 10: 27.
17. Burrows M. Energy storage and synchronisation of hind leg movements during jumping in planthopper insects (Hemiptera, Issidae). *J. Exp. Biol*. 2010; 213: 469-478.
18. Chan BP, Leong KW. Scaffolding in tissue engineering: general approaches and tissue-specific considerations. *Eur Spine J*. 2008; 17(Suppl 4): 467-479.
19. Chih-Hwa C. Graft healing in anterior cruciate ligament reconstruction. *Sports Med, Arthroscopy, Rehabilitation, Therapy & Technology*. 2009; (1): 21.
20. Coupee C, Hansen P, Kongsgaard M et al. Lower strength of the human posterior patellar tendon seems unrelated to mature collagen cross-linking and fibril morphology. *J of Applied Physiology*. 2010; 108(1): 47-52.
21. Fernandez-Barbero JE et al. Flow cytometric and morphological characterization of platelet-rich plasma gel. *Clin. Oral Implants Res*. 2006; 17(6): 687-693.
22. Gleeson JP, O'Brien FJ. Composite scaffolds for orthopaedic regenerative medicine. *Advances in Composite Materials for Medicine and Nanotechnology*. 2011; 10: 33-59.
23. Grayson WL, Frohlich M, Yeager K, Bhumiratana S, Chan ME, Cannizzaro C et al. Engineering anatomically shaped human bone grafts. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010; 107(8): 3299-3304.
24. Harner CD, Olson E, Irgang JJ et al. Allograft versus autograft anterior cruciate ligament reconstruction: 3- to 5-year outcome. *Clin Orthop*. 1996; 324: 134-144.
25. Hofmann S, Garcia-Fuentes M. Bioactive scaffolds for the controlled formation of complex skeletal tissues. In: *Regenerative medicine and tissue engineering: cells and biomaterials*. Ed. by Eberli D. Rijeka: In Tech; 2011; p. 393-432, <http://dx.doi.org/10.5772/22061>.
26. Hustedt JW, Jegede KA, Badrinath R, Bohl DD, Blizzard DJ, Grauer JN. Optimal aspiration volume of vertebral bone marrow for use in spinal fusion. *Spine J*. 2013; 13(10): 1217-1222.
27. Izu Y, Ansoerge HL, Zhang G et al. Dysfunctional tendon collagen fibrillogenesis in collagen VI null mice. *Matrix biology*. 2011; 30(1): 53-61.
28. Lopez-Vidriero E, Krista AG, David AS et al. The Use of Platelet-Rich Plasma in Arthroscopy and Sports Medicine: Optimizing the Healing Environment. *Arthroscopy*. 2010; 26(2): 269-278.
29. Luginbuehl V, Meinel L, Merkle HP, Gander B. Localized delivery of growth factors for bone repair. *Eur J Pharm Biopharm*. 2004; 58(2): 197-208.
30. Maria JH et al. Effectiveness of Two Methods for Preparation of Autologous Platelet-Rich Plasma: An Experimental Study in Rabbits. *Eur. J. Dent*. 2010; 4(4): 395-402.
31. Marx R. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *Oral Maxillofac Surg*. 2004; 62(4): 489-496.
32. Naghashzargar E, Fare S, Catto V, Bertoldi S, Semnani D, Karbasi S, Tanzi MC. Nano/micro hybrid scaffold of PCL or P3HB nanofibers combined with silk fibroin for tendon and ligament tissue engineering. *J Appl Biomater Funct Mater*. 2015; 13(2): 156-168.
33. Schmitt JM et al. Bone morphogenetic proteins: An update on basic biology and clinical relevance. *J. Orthop. Res*. 1999; 17: 269-278.
34. Stella JA, D'Amore A, Wagner WR, Sacks MS. On the biomechanical function of scaffolds for engineering loadbearing soft tissues. *Acta Biomater*. 2010; 6(7): 2365-2381.
35. Strickland JW. Development of Flexor Tendon Surgery: Twenty-Five Years of Progress. *J. Hand Surgery*. 2000; 25(2): 214-235.
36. Strioga M, Viswanathan S, Darinskas A, Slaby O, Michalek J. Same or not the same? Comparison of adipose tissue-derived versus bone marrow-derived mesenchymal stem and stromal cells. *Stem Cells and Development*. 2012; 21(14): 2724-2752.
37. Sundelacruz S, Kaplan DL. Stem cell-and scaffold-based tissue engineering approaches to osteochondral regenerative medicine. *Semin Cell Dev Biol*. 2009; 20(6): 646-655.
38. Urist MR, Strates BS. Bone morphogenetic protein. *J. Dent. Res*. 1972; 50: 1392.

