

Stimulácia pulzného elektromagnetického poľa v osteogenéze a chondrogenéze: signálne dráhy a terapeutické dôsledky

[Katia Varani](#) , ¹ [Fabrizio Vincenzi](#) , ¹ [Silvia Pasquini](#) , ¹ [Irene Blo](#) , ² [Simona Salati](#) , ^{3,*} [Matteo Cadossi](#) , ³ a [Monica De Mattei](#) ²

[Informácie o autorovi](#) [Poznámky k článku](#) [Informácie o autorských právach a licenciách](#) [PMC Disclaimer](#)

Pridružené údaje

[Vyhlásenie o dostupnosti údajov](#)

[Ísť do:](#)

Abstraktné

Mezenchymálne kmeňové bunky (MSC) sú hlavnými bunkovými hráčmi pri oprave tkaniva a vďaka svojim schopnostiam samoobnovy a multi-líniovej diferenciácie získali významnú pozornosť ako bunkový zdroj pre prístupy tkanivového inžinierstva (TE) zamerané na obnovu defektov kostí a chrupaviek. Napriek významnému pokroku zostáva ich terapeutická aplikácia diskutovaná: konštrukt TE často nedokáže úplne obnoviť biomechanické vlastnosti natívneho tkaniva, čo vedie k zlým klinickým výsledkom z dlhodobého hľadiska. Pulzné elektromagnetické polia (PEMF) sa v súčasnosti používajú ako bezpečná a neinvazívna liečba na zlepšenie hojenia kostí a na zabezpečenie ochrany kĺbov. PEMF zvyšujú osteogénnu aj chondrogénnu diferenciáciu MSC. Tu, poskytujeme rozsiahly prehľad signálnych dráh modulovaných PEMF počas osteogénnej a chondrogénnej diferenciácie MSC. Zvláštna pozornosť bola venovaná PEMF-sprostredkovanej aktivácii adenosínovej signalizácie a ich regulácii zápalovej odpovede ako kľúčového hráča v TE prístupoch. Celkovo sa aplikácia PEMF pri oprave tkaniva

predpokladá: (1) in vitro: na zlepšenie funkčných a mechanických vlastností vytvoreného konštruktú; (2) in vivo: (i) na podporu integrácie štepu, (ii) na kontrolu lokálnej zápalovej reakcie a (iii) na podporu opravy tkaniva z implantovaných aj rezidentných buniek MSC. aplikácia PEMF pri oprave tkaniva sa predpokladá: (1) in vitro: zlepšiť funkčné a mechanické vlastnosti vytvoreného konštruktú; (2) in vivo: (i) na podporu integrácie štepu, (ii) na kontrolu lokálnej zápalovej reakcie a (iii) na podporu opravy tkaniva z implantovaných aj rezidentných buniek MSC. aplikácia PEMF pri oprave tkaniva sa predpokladá: (1) in vitro: zlepšiť funkčné a mechanické vlastnosti vytvoreného konštruktú; (2) in vivo: (i) na podporu integrácie štepu, (ii) na kontrolu lokálnej zápalovej reakcie a (iii) na podporu opravy tkaniva z implantovaných aj rezidentných buniek MSC.

Kľúčové slová: mezenchymálne kmeňové bunky, pulzné elektromagnetické polia, osteogénna diferenciácia, chondrogénna diferenciácia, tkanivové inžinierstvo, adenzínové receptory

[Ísť do:](#)

1. Úvod

Mezenchymálne kmeňové bunky (MSC) sú multipotentné stromálne bunky so schopnosťou samoobnovy a diferenciácie na osteoblasty, chondrocyty a adipocyty [[1](#)]. Vďaka svojmu multilineárnemu diferenciačnému potenciálu predstavujú MSC atraktívny bunkový zdroj pre prístupy regeneratívnej medicíny. V posledných rokoch si tkanivové inžinierstvo (TE) založené na použití MSC získalo významnú pozornosť ako alternatívny prístup k liečbe defektov kostí a chrupaviek. Kostné štepy využívajúce prístupy TE založené na MSC boli navrhnuté v širokom spektre klinických nastavení na zvýšenie opravy a regenerácie kostí. Podobne stratégie opravy chrupavkového inžinierstva, ktoré sa spoliehajú na diferenciáciu MSC, predstavujú atraktívneho kandidáta na liečbu lézií chrupavky.

Okrem ich viacliniového diferenciačného potenciálu majú MSC schopnosť migrovať do poškodených miest v reakcii na environmentálne signály a podporovať regeneráciu tkaniva buď priamou náhradou poškodeného tkaniva alebo interakciou s

rezidentnými bunkami, aby sa podporila endogénna oprava. Terapeutické účinky MSC závisia aj od ich schopnosti kontrolovať tkanivovú homeostázu: MSC môžu modulovať imunitnú odpoveď, podporovať prežitie buniek a indukovať angiogénu prostredníctvom sekrécie rastových faktorov, cytokínov a extracelulárnych vezikúl [2]. Schopnosť MSC potlačiť imunitnú odpoveď je obzvlášť zaujímavá pre ich klinickú aplikáciu, čím sa znižuje pravdepodobnosť odmietnutia imunitným systémom hostiteľa po transplantácii. Okrem toho sú MSC ideálnym bunkovým kandidátom na TE prístupy, pretože sa dajú ľahko zbierať z dostupných zdrojov s minimálne invazívnymi postupmi (napr. kostná dreň, periférna krv, tukové tkanivo) a možno ich rýchlo rozšíriť in vitro na klinické použitie [3]. Nedávny prehľad od Hassana a kol. rozsiahlo analyzovali rôzne in vitro expanzné protokoly pre MSC izolované z rôznych zdrojov: autori uviedli, že až 20-násobnú expanziu možno dosiahnuť pre MSC odvodené z tukového tkaniva (ADMSC) a MSC z kostnej drene (BM-MS) bez ohrozenia životaschopnosti buniek a diferenciačný potenciál, pričom bioreaktor a viacvrstvomá banka sú najúčinnejšie stratégie biospracovania [4].

Niekoľko štúdií sa pokúšalo využiť MSC v prístupoch tkanivového inžinierstva a regeneratívnej medicíny; avšak vo väčšine prípadov bola miera prihojenia nízka, naštepené bunky mali krátku životnosť a nedokázali sa úplne diferencovať na funkčné terminálne diferencované bunky. Okrem toho zápal často charakterizujúci miesto poškodenia ďalej podkopáva úspešnosť liečby.

Výsledky niekoľkých štúdií in vitro a in vivo, ktoré naznačujú, že MSC majú potenciál zvýšiť kostnú opravu a osteogénu, podporili aktiváciu niekoľkých registrovaných klinických štúdií na skúmanie úlohy MSC pri hojení kostných defektov; zatiaľ však len niekoľko z nich oznámilo svoje výsledky [5]. Nedostatok publikovaných výsledkov spôsobuje, že účinnosť týchto terapeutických prístupov zostáva kontroverzná.

Aplikácia prístupov TE a regeneratívnej medicíny na opravu lézií kĺbovej chrupavky sa zdá byť ešte zložitejšia: hoci reparačné stratégie, ktoré sa spoliehajú na chondrogénu diferenciáciu MSC, sú atraktívne, existujúce metódy neposkytujú spoľahlivé dlhodobé klinické výsledky

[6]. Bola hlásená narušená tvorba tkaniva, ktorému chýbajú biologické a mechanické vlastnosti natívneho tkaniva, spolu s ťažkosťami pri integrácii skonštruovaného konštruktú do okolitého tkaniva [7]. V dôsledku toho sa stále diskutuje o klinickom použití MSC na opravu chrupavky, najmä pri ťažkých poškodeniach, ako je osteoartrída.

Je preto jasné, že je potrebné zlepšiť súčasné dostupné technológie TE, aby sa vyvinuli účinné náhrady tkaniva podporujúce dlhodobé klinické výhody. Spolu s prístupmi TE je potrebné usilovať sa o terapie zamerané buď na zlepšenie endogénnej regeneračnej kapacity rezidentných MSC alebo nábor do buniek kompetentných na opravu poškodeného miesta. Liečebné postupy schopné zlepšiť výkonnosť MSC, pôsobiace tak na ich opravnú/regeneračnú kapacitu, ako aj na ich schopnosť modulovať imunitnú/zápalovú odpoveď, prinesú významnú hodnotu súčasnej regeneratívnej medicíny a prístupom k oprave tkaniva.

[Ísť do:](#)

2. Pulzné elektromagnetické polia

Pulzné elektromagnetické polia (PEMF) sa v súčasnosti používajú v ortopedickej oblasti na podporu reparatívnej osteogenézy a na zabezpečenie ochrany kĺbov [8]. Prvá správa popisujúca úspešnú aplikáciu PEMF na liečbu zlomenín, ktoré nie sú v kĺboch, sa datuje do roku 1974 [9] a v roku 1979 FDA schválila PEMF ako bezpečnú a účinnú liečbu nezrastov, vrodenej pseudoartrózy a neúspešných fúzií. Vedecké základy stimulácie PEMF pre hojenie kostí spočívajú v identifikácii vzťahu medzi elektrickou aktivitou a tvorbou kosti v reakcii na aplikovanú mechanickú záťaž od Fukadu a Bassetta [10, 11].

PEMF sú nízkofrekvenčné magnetické polia so špecifickým tvarom vlny a amplitúdou, ktoré sa vyznačujú konštantnými zmenami amplitúdy magnetického poľa v priebehu času. Pulzné magnetické pole indukuje v exponovanom tkanive sekundárne elektrické pole podobné tomu, ktoré sa prirodzene vytvára pri premene mechanickej energie na elektrickú [12]. V posledných 20 rokoch sa výskumné

metodológie prevzaté z farmakológie systematicky aplikovali na štúdium biologických účinkov vyvolaných expozíciou PEMF, čo vedie k rozvoju fyzikálnej dynamiky, tj vedy, ktorá študuje presnú kombináciu fyzikálnych parametrov potrebných na dosiahnutie požadovaných biologických účinkov.

Dôkazy v literatúre ukazujú, že účinnosť stimulačného zariadenia PEMF závisí od fyzikálnych vlastností použitého elektromagnetického signálu. V prehľade literatúry Massari et al. hľadali klinické štúdie hodnotiace účinnosť liečby PEMF. Prieskum ukázal, že na trhu je dostupných niekoľko zariadení PEMF, avšak len niekoľko signálov PEMF je podložených klinickými dôkazmi: tieto signály sú buď lichobežníkové alebo pílovité vlny so špičkovou intenzitou magnetického poľa v rozsahu od 1,2 mTesla (mT) do 2 mT a frekvencie opakovania signálu medzi 15 Hz a 75 Hz [13]. V súčasnosti sa tieto zariadenia používajú na klinike na bezpečnú podporu a urýchlenie hojenia zlomenín kostí: Stimulácia PEMF sa ukázala ako účinná pri podpore hojenia nezrastov [14] a oneskorené zväzky [15]. Tiež čerstvé zlomeniny s rizikom nezhojenia sa môžu úspešne liečiť pomocou PEMF: Faldini et al. pri zlomeninách krčka stehnovej kosti uviedli 94 % mieru hojenia v skupine PEMF v porovnaní so 69 % v skupine s placebom [16]. Od začiatku 21. storočia sa vďaka výsledkom veľkého projektu translačného výskumu (Cartilage Repair and Electromagnetic Stimulation: CRES study) stimulácia PEMF úspešne aplikuje aj na skoré štádium osteoartritídy, posttraumatickej kĺbovej patológie a po chirurgickej liečbe kĺbov na kontrolu zápalu a ochranu kĺbovej chrupavky pred degeneráciou [8].

Vzhľadom na ústrednú úlohu MSC v prirodzených udalostiach vedúcich k diferenciacii a oprave tkaniva a vzhľadom na to, že bunkové zložky v TE sa približujú k kosti [17] aj chrupavke [6]], v posledných rokoch sa niekoľko snáh zameralo na odhalenie účinkov elektromagnetických polí (EMF) na osteogénnu a chondrogénnu diferenciaciu MSC, ako aj zapojené signálne dráhy. Ako je podrobne uvedené nižšie, získané výsledky ukázali, že PEMF kontrolujú zápalové mikroprostredie a podporujú diferenciaciu MSC, čím hrajú proosteogénnu a chondrogénnu úlohu. V tejto oblasti umožňuje identifikácia membránových cieľov PEMF a zahrnutých špecifických

intra- a extracelulárnych dráh racionálnu aplikáciu PEMF na klinické stavy charakterizované narušením týchto špecifických dráh.

[Ísť do:](#)

3. Adenozínový agonistický efekt indukovaný pulznými elektromagnetickými poľami

Adenozín je purínový endogénny nukleozid s mnohými fyziopatologickými funkciami zapojenými do rakoviny, bolesti, zápalu a neurodegeneratívnych ochorení. Adenozín sa primárne syntetizuje z defosforylácie ATP, ADP a AMP, kombinovaným pôsobením dvoch hydrolyzujúcich enzýmov, ktoré sa nazývajú ektonukleozidtrifosfátdifosfohydroláza (CD39) a ekto-5'-nukleotidáza (CD73) [18]. Intracelulárne hladiny adenozínu sú udržiavané nízke vďaka konverzii na AMP adenozínkinázou. Keď dopyt po energii stúpa, napríklad počas zápalu alebo pri hypoxických/ischemických stavoch, zvyšuje sa extracelulárna koncentrácia adenozínu [19]. Funkcie adenozínu sú sprostredkované jeho interakciou so štyrmi receptormi spojenými s G-proteínom (GPCR), menovite A_{1} , A_{2A} , A_{2B} a A_{3ARs} . Najmä A_{1} a A_{3AR} sú spojené s G_i proteínom a inhibujú adenylátcyklázu (AC) znižujúcu hladiny cAMP. Naopak, A_{2A} a A_{2B} AR sú spojené s G_s proteínom a ich aktivácia vedie k zvýšeniu cAMP [18]. Modulácia AR sa silne podieľa na regulácii zápalových procesov, čo naznačuje ich zapojenie do rôznych patológií vyplývajúcich zo zápalu, vrátane mnohých ochorení kĺbov [20].

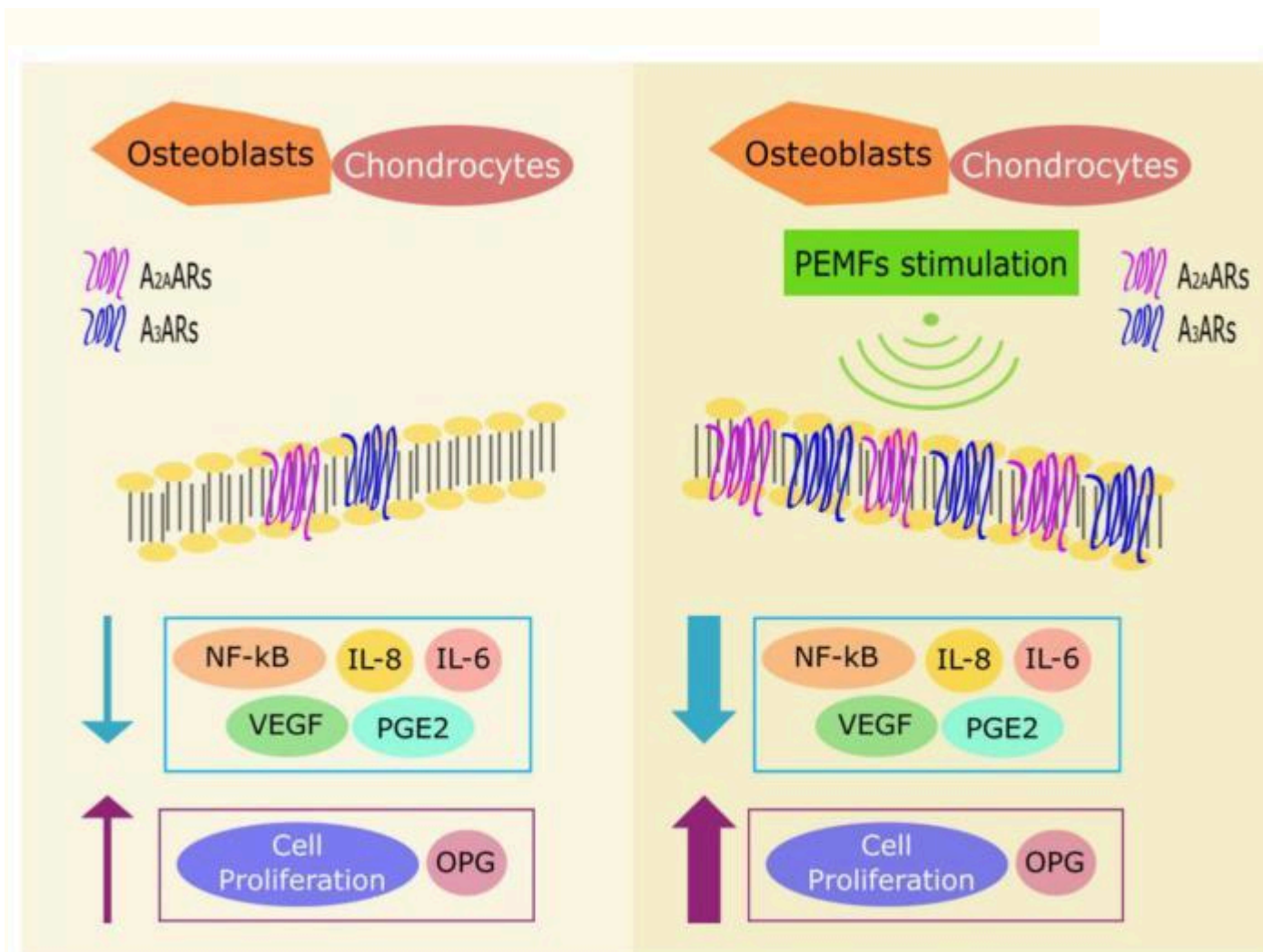
Je dobre známe, že adenozín a jeho metabolity sú dôležitými faktormi rastu a diferenciácie MSC, ale nie vždy sú súčasťou sekretómu MSC [21, 22]. Údaje uvedené v literatúre uvádzajú, že adenozín reguluje diferenciáciu MSC stimulujúc chondrogenézu aj osteogenézu prostredníctvom aktivácie A_{2A} a A_{2B} AR [23]. Aktivácia A_{2A} AR endogénnym adenozínom riadi homeostázu matrice chrupavky vo fyziologických podmienkach [24]. Strata A_{2A} AR alebo CD73 u knockoutovaných myší spôsobuje spontánnu osteoartritídu s modifikovaným zložením chrupavky a stenčovaním chrupavky [25, 26]. Okrem toho sa uvádza, že A_{2AARs} downregulujú osteogénnu diferenciáciu a že expresia A_{2AARs} je znížená v diferencovaných osteoblastoch, zatiaľ čo naopak dochádza počas chondrogenézy

sprevádzanej redukcii CD73. To naznačuje, že zmeny v $A_2A_{ARs}/CD73$ môžu nasmerovať bunky skôr k osteogénnej diferenciacii ako k chondrogénnej [27].

Podobne ako u A_{2A} AR, aj u A_3 ARs knockout myši sa vyvinie spontánna osteoartritída [25 , 28]. Stimulácia A_3 AR pôsobí proti zápalu podporou infiltračnej smrti zápalových buniek a odvrátením apoptózy chondrocytov [29]. V ľudských chondrocytoch stimulácia A_{3AR} vedie k downregulácii prokatabolických dráh, čím sa zabráni degenerácii chrupavky [30].

Prvá správa popisujúca vplyv PEMF na AR pochádza z roku 2002, keď Varani a kol. opísali upreguláciu A_2A_{AR} indukovanú expozíciou PEMF v ľudských neutrofiloch [31]. Neskôr štúdie uskutočnené na artikulárnych bunkách – ako sú chondrocyty a synoviocyty – uviedli, že liečba PEMF zvyšuje expresiu A_{2A} a A_3 AR ([postava 1](#)), pričom nemá žiadne účinky na iné podtypy AR [32]. Spoločná liečba s PEMF a selektívnymi agonistami A_{2A} a A_{3AR} , [CGS21680](#) a Cl-IB-MECA, v danom poradí, ukázala zvýšený účinok na produkciu cAMP v porovnaní s liečbou samotným agonistom. To naznačuje, že PEMF pôsobia ako modulátory schopné zvýšiť aktivitu agonistu adenosínu. Tento účinok bol zrušený použitím selektívnych antagonistov A_{2A} a A_{3AR} (SCH 58261 a MRE 3008F20), čo potvrdzuje, že pozorovaný účinok bol spôsobený aktiváciou A_2A a A_3 AR a nie zmenou funkčnosti AC [32]. Liečba PEMF ovplyvňuje aj bunkový rast boviných chondrocytov a synoviocytov podobných fibroblastom: spoločná liečba [CGS21680](#) a PEMF významne zvyšuje bunkovú proliferáciu [32]. Ďalšie štúdie ukázali, že stimulácia A_{2A} a A_3 ARs v prítomnosti PEMF má protizápalové účinky znižujúce uvoľňovanie PGE2 a expresiu cyklooxygenázy typu 2 (COX-2) v hovädzích synoviálnych fibroblastoch [33]. Ako je uvedené vyššie, A_2A a A_3AR majú významnú úlohu pri zápale: liečba A_{2A} a A_3 Agonisty AR majú za následok znížené uvoľňovanie prozápalových cytokínov, ako je tumor nekrotizujúci faktor α (TNF- α), interleukín (IL) 8, PGE2 a IL-6, a zvýšenú produkciu protizápalového cytokínu IL-10 ([postava 1](#)) [34 , 35]. Štúdie in vitro uskutočnené na bunkových líniiach T/C-28a2 a hFOB 1.19, ľudských chondrocytoch a osteoblastoch, v uvedenom poradí, potvrdili predchádzajúce údaje získané v bunkách hovädzieho dobytku, ktoré odhaľujú, že expozícia PEMF vedie k zvýšenej expresii A_2A a A_3 AR , čo potvrdzuje RT-PCR, analýza

Western blotting a experimenty saturačnej väzby [36]. Zvýšená regulácia A_{2A} a A_3 AR indukovaná PEMF môže posilniť kompenzačný mechanizmus tela, aby pôsobil proti zápalu. Dokonca aj v ľudských chondrocytoch a osteoblastoch spoločná liečba s [CGS21680](#) a PEMF zvyšuje bunkovú proliferáciu. Ďalej oba [CGS21680](#) a CI-IB-MECA preukázali protizápalový potenciál znižujúci uvoľňovanie zápalových cytokínov a iných mediátorov zapojených do zápalu kĺbov a ochorení kostí [36]. Na druhej strane, v hFOB 1.19 osteoblastoch expozícia PEMF určila zvýšenie produkcie osteoprotegerínu (OPG) ([postava 1](#)). OPG bráni väzbe medzi aktivátorom receptora NF- κ B ligandu (RANKL) a RANK, čo bráni diferenciacii a aktivácii osteoklastov [36], čím inhibuje osteolýzu.



[postava 1](#)

Účinok PEMF na ľudské osteoblasty a chondrocyty (žiadne PEMF: ľavý panel, expozícia PEMF: pravý panel). Stimulácia PEMF indukuje zvýšenie exprese A_{2A} a A_{3ARs} . Upregulácia indukovaná PEMF zvyšuje signalizáciu protizápalových downstream receptorov

znížením aktivácie NF-KB a uvoľňovaním zápalových mediátorov, ako sú IL-6, IL-8 a PGE2. Okrem toho, PEMF-indukovaná modulácia A2A a A3AR má za následok znížené uvoľňovanie VEGF a zvýšenú bunkovú proliferáciu a produkciu OPG.

[Ísť do:](#)

4. Chondrogénne účinky a dráhy aktivované pulznými elektromagnetickými poľami

MSC sú vybavené chondrogénnym diferenciačným potenciálom a predstavujú atraktívny bunkový zdroj pre tkanivové inžinierstvo chrupavky [1]. Na základe ich vyššie uvedených prochondrogénnych a protizápalových účinkov by stimulácia PEMF mohla predstavovať adjuvantnú stratégiu na zvýšenie rýchlosti a kvality chondrogénnej diferenciácie a na zlepšenie funkčnosti opraveného tkaniva, čo v konečnom dôsledku zlepši výsledok po prístupoch TE.

Ukázalo sa, že PEMF aktívne podporujú chondrogénnu diferenciáciu MSC izolovaných z rôznych zdrojov. Mayer-Wagner a kol. po prvýkrát opísali účinok stimulácie PEMF na chondrogénnu diferenciáciu ľudských BM-MSCs [37]. V prítomnosti chondrogénno-induktívnych rastových faktorov vyvolala expozícia PEMF zvýšenú expresiu kolagénu typu II (Col2) a obsah glykozaminoglykánu (GAG). Chen a kol. uviedli, že stimulácia PEMF zvýšila chondrogénnu diferenciáciu ľudských ADMSC v dvojrozmerných (2D) aj trojrozmerných (3D) kultúrach. PEMF významne zvýšili expresiu chondrogénnych génov (SOX9, kolagén typu II a agrekan) a ukladanie chrupavkového matrixu (sulfátovaný GAG) [38]. V MSC odvodených z ľudskej pupočnej šnúry Esposito et al. ukázali, že PEMF zvýšili bunkovú proliferáciu a chondrogénnu diferenciáciu [39]. Tieto výsledky potvrdili Kavand a kol. v králičích MSC odvodených z tukového tkaniva kultivovaných v 3D: expozícia PEMF (1,6 mTesla (mT) pri 25 alebo 50 Hz, 8 h/deň, počas 21 dní) zvýšila expresiu Col2 a ukladanie extracelulárnej matrice [40]. Nedávno Chen a kol. ukázali, že PEMF sú účinné pri podpore chondrogenézy superparamagnetických nanočastíc oxidu železa (SPIO) značených MSC v potkanom modeli defektov chrupavky prostredníctvom aktivácie signálnej dráhy transformujúceho rastového faktora beta (TGF- β)/SMAD [41].

Naopak, Wang a spol. v potkaních BM-MSC uviedli, že PEMF pri 1, 2 a 5 mT inhibujú udržiavanie chrupavkového fenotypu a zvyšujú degradáciu extracelulárnej matrice špecifickej pre chrupavku v neskorom štádiu chondrogénnej diferenciácie [42].

Hlásené účinky PEMF na chondrogénnu diferenciáciu MSC ukazujú širokú škálu reakcií, od stimulácie [37, 38] až po inhibíciu chondrogenézy [42] (stôl 1). Za takéto nezrovnalosti sú pravdepodobne zodpovedné významné rozdiely v parametroch signálu PEMF (tj tvar vlny, maximálna intenzita magnetického poľa, frekvencia a hodiny stimulácie). Aby sa tento problém prekonalo, Parate a kol. testovali účinky expozície PEMF na chondrogénnu diferenciáciu ľudského MSC zmenou maximálnej amplitúdy magnetického poľa, trvania expozície a dávkovania. Optimálna chondrogénna diferenciácia sa dosiahla v reakcii na jednu 10-minútovú expozíciu pri 2 mT PEMF: bola hlásená významná upregulácia expresie Sox9, Col2 a agrekanovej mRNA, čo sa premietlo do zvýšenej chondrogénnej depozície ECM po 21 dňoch kultivácie [43]. Autori tiež vynaložili značné úsilie na identifikáciu signálnych dráh regulujúcich odpoveď na PEMF: detegovala sa časová, intenzita a na dávke závislá upregulácia oboch kationových kanálov V4 a C1 (TRPV4 a TRPC1) s prechodným receptorovým potenciálom (TRP). Kanály TRP sa podieľajú na bunkovej mechanotransdukcii, ktorá reguluje prílev Ca^{2+} v reakcii na mechanické stimuly. Influx Ca^{2+} je kľúčovou udalosťou pri iniciácii chondrogenézy a TRPV4 aj TRPC1 sa podieľajú na chondrogénnej diferenciácii [44] a včasnej expanzii chondrocytov [45]. PEMF teda náborom TRP kanálov zvyšujú intracelulárnu koncentráciu Ca^{2+} a zvyšujú chondrogenézu.

stôl 1

Účinky pulzných elektromagnetických polí na chondrogénny potenciál mezenchymálnych kmeňových buniek (MSC).

Zdroj bunky	Parametre PEMF	Účinky PEMF
Potkanie BM-MSC	75 Hz, 1–5 mT 3 h/deň počas 4 týždňov. Chengdu Miracle Chemical zariadenie.	Inhibovať zachovanie chrupavkového fenotypu [42]
Kráľičie ADMSC	75 Hz, 1,8 mT, 8 h/deň počas 21 dní	Zvýšte expresiu kolagénu typu II a ukladanie ECM [40]

Zdroj bunky	Parametre PEMF	Účinky PEMF
Bovinné MSC zo synoviálnej tekutiny	Lichobežníková vlna, 75 Hz, 1,5 mT, 3–5 týždňov. Zariadenie IGEA.	Pôsobí proti IL-1 β -indukovanej inhibícii chondrogenézy [46]
Ľudské ADMSC	Sínusová vlna, 1 T, 3 min/deň, 3-5-7-10 dní.	Zvýšte expresiu kolagénu typu II a obsah glykozaminoglykánov (GAG) [38] Posilnite chondrogénnu diferenciáciu v 2D a 3D kultúrach [38]
MSC odvođené z ľudskej pupočnej šnúry	Lichobežníková vlna, 75 Hz, 1,5 mT, 8 h/deň, 21 dní. Zariadenie IGEA.	Zvýšte bunkovú proliferáciu [39] Zvýšte chondrogénnu diferenciáciu [39]
	Sínusová vlna, 15 Hz, 5 mT, 45 minút každých 8 hodín, počas 21 dní. Zariadenie TNeue Magnetodyn.	Zvýšte chondrogénnu diferenciáciu [37]
	15 Hz, 1–4 mT, 5–60 min, jedna a viacnásobná expozícia.	Upregulujte expresiu Sox9, Col2 a agrekanovej mRNA [43] Zvýšte chondrogénnu depozíciu ECM [43]
Ľudské BM-MSK		Upregulácia TRPV4 a TRPC1 [43] Propagujte migráciu MSC [47] Zvýšenie intracelulárneho Ca ²⁺ [47] Aktivácia FAK [47] zvýšená aktivita Rho GTPázy [47] zvýšená tvorba F-aktínovej siete [47]
	Sínusová vlna, 7,5–75 Hz, 1 mT, 24 h. Námorná inžinierska univerzita.	
	15 Hz, 0–3 mT, 5–30 min, jedna a viacnásobná expozícia.	Kolmé PEMF zvyšujú chondrogénnu diferenciáciu v MSC kultivovaných na náhodne orientovaných skafoldoch [48]
	15 Hz, 0,5–4 mT, 10 min.	Posilniť parakrinnú funkciu MSC na regeneráciu chrupavky [49]

[Otvoriť v samostatnom okne](#)

Skratky: hodiny, h; minúty, min; Hertz, Hz; interleukín 1 beta, IL-1p, fokálna adhézna kináza, FAK.

Zvýšená intracelulárna koncentrácia Ca²⁺ sa tiež podieľa na regulácii migrácie MSC v reakcii na PEMF [47]. Ukázalo sa, že expozícia PEMF (1 mT, 50 Hz, 24 h) podporuje migráciu MSC intracelulárnym spôsobom závislým od vápnika. Intracelulárne zvýšenie Ca²⁺

indukované PEMF aktivuje signalizáciu fokálnej adhéznej kinázy (FAK), čo vedie k zvýšenej aktivite Rho GTPázy a zvýšenej tvorbe F-aktínovej siete, ktorá podporuje reorganizáciu cytoskeletu a migráciu buniek.

Ukázalo sa tiež, že smery magnetického poľa ovplyvňujú chondrogénnu diferenciáciu MSC [48]. Celik a kol. uviedli, že chondrogénna diferenciácia sa zvýšila, keď sa MSC kultivovali na náhodne orientovaných skafoldoch a vystavili sa kolmým PEMF. Tento účinok bol výsledkom komplexnej súhry dynamiky fokálnej adhérie, remodelácie cytoskeletu a mitochondriálnych reakcií.

Ukázalo sa tiež, že PEMF modulujú sekretóm MSC, hodnotené ako kondicionované médium (CM) zozbierané z MSC exponovaných PEMF [49]. V tejto štúdiu autori uviedli, že KM zozbierané z MSC exponovaných PEMF (PCM) má zvýšenú prochondrogénnu aktivitu v porovnaní s médiom odvodeným z neexponovaných buniek. V skutočnosti podporoval tvorbu chrupavky s vynikajúcim hyalínovým fenotypom a vykazoval vyšší protizápalový potenciál, ktorý chráni chrupavku pred nepriaznivými zápalovými stavmi v kĺbovom prostredí. Navyše migrácia chondrocytov aj MSC bola zvýšená pomocou PCM, čo naznačuje jeho potenciál chemotakticky priťahovať chondrocyty alebo MSC a podporovať endogénnu regeneráciu chrupavky.

Protizápalový účinok expozície PEMF bol podrobne opísaný vyššie. Zvlášť zaujímavé sú výsledky od Ongaro et al. ktorí skúmali účinky stimulácie PEMF počas chondrogénnej diferenciácie hovädzích synoviálnych MSC v prítomnosti IL-1 β [46]. Autori uviedli, že stimulácia PEMF samotná alebo v prítomnosti chondrogénneho indukčného média mala obmedzený účinok na podporu diferenciácie chondrocytov. V prítomnosti IL-1 p však stimulácia PEMF pôsobila proti IL-1 p-indukovanej inhibícii chondrogenézy, obnovila syntézu proteoglykánu a zachovala expresiu agrekanu a mRNA Col2. Tieto údaje naznačujú, že stimulácia PEMF udržiava a podporuje chondrogénnu diferenciáciu aj pri zápalových stavoch.

V súlade s týmito zisteniami Veronesi et al. ukázali, že stimulácia PEMF podporuje osteochondrálnu regeneráciu v králičích

osteocondrálnych léziách liečených kolagénovým skeletom a koncentrátom BM [50]. Najmä expozícia PEMF výrazne zlepšila celularitu chrupavky a obsah GAG matrice a makroskopický vzhľad a percento chrupavky pod značkou prílivu. Nedávno Stefani a kol. hodnotili účinky expozície PEMF na štrukturálnu a funkčnú kvalitu tkanivovo vytvorených chrupavkových štepov [51]. Autori uviedli, že stimulácia PEMF podporuje tvorbu rovnomerného hyalínového reparovaného tkaniva a znižuje hladiny prozápalových cytokínov v kĺbovom prostredí.

[Ísť do:](#)

5. Terapeutické dôsledky pre prístupy k oprave chrupavky

Štúdie diskutované vyššie naznačujú významný vplyv stimulácie PEMF na rôzne aspekty terapií založených na MSC na opravu chrupavky. Po prvé, expozícia PEMF zvyšuje chondrogénnu diferenciáciu MSC prostredníctvom priamej aktivácie chondrogénnych signálnych dráh (tj TGF- β /SMAD) a nepriameho parakrinného mechanizmu, sprostredkovaného sekretómom MSC. Z tohto pohľadu by sa PEMF mohli použiť ako adjuvantná terapia na zvýšenie génovej expresie špecifickej pre chrupavku a chondrogénnej diferenciácie MSC na prekonanie prekážok používania rastových faktorov in vivo.

Po druhé, stimulácia PEMF môže tiež pôsobiť ako chemotaktický signál pre MSC a chondrocyty, čím podporuje migráciu buniek na miesto poškodenia, aby sa podporila oprava tkaniva. Po tretie, PEMF majú silný protizápalový účinok, ktorý chráni tkanivo chrupavky pred katabolickou aktivitou prozápalových cytokínov. Po poranení chrupavky alebo osteoartritíde je expresia prozápalových cytokínov a katabolických faktorov zvýšená, čo spôsobuje trvalý zápal, degradáciu matrice a apoptózu chondrocytov [52]. Expozícia PEMF má priamy protizápalový účinok prostredníctvom zvýšenej regulácie A_{2A} a A_{3} adenozinové receptory, čím sa znižuje uvoľňovanie prozápalových cytokínov a zvyšuje sa uvoľňovanie protizápalových mediátorov. Okrem toho expozícia PEMF zvyšuje protizápalový potenciál sekretómu MSC, čím sa zvyšuje terapeutická účinnosť MSC pri zmierňovaní poškodenia chrupavky a obnove regeneračnej kapacity MSC v prostredí zapáleného kĺbu.

6. Osteogénne účinky a dráhy aktivované pulznými elektromagnetickými poľami

Hojenie kostí je veľmi zložitý proces zahŕňajúci rôzne fázy sprevádzané tvorbou nového tkaniva, ktoré obnovuje poranenú kosť. Po zápalovej fáze zahŕňa nábor MSC, ich diferenciáciu na osteoblasty a produkciu zložiek extracelulárnej kostnej matrice. Teraz je známe, že všetky tieto procesy sú riadené množstvom signálov, ktoré regulujú aktivity buniek na opravu kostí prostredníctvom modulácie signálnych dráh. Hlavné zahrnuté signálne dráhy boli nedávno preskúmané Majidinia et al. a zahŕňajú Wnt/ β -katenín, Notch, kostný morfogenetický proteín (BMP)/TGF- β , fosfoinozítid 3-kinázy/Akt/cicavčí cieľ rapamycínu (PI3K/Akt/mTOR), mitogénom aktivovanú proteínkinázu (MAPK), krvné doštičky - odvodený rastový faktor (PDGF), inzulínu podobný rastový faktor (IGF),[53](#)].

Tu sa zameriavame na najdôležitejšie údaje týkajúce sa stimulácie osteogénnej diferenciácie MSC indukovanej PEMF s potenciálnymi terapeutickými dôsledkami na liečbu ochorení kostí. Charakteristiky a účinky EMF na osteoblasty a osteoklasty nedávno zhodnotili Zhang B et al. [[54](#)]. V jednej z prvých štúdií analyzujúcich osteogénne účinky PEMF na ľudské MSC sa zistilo, že expozícia PEMF zvýšila produkciu osteogénnych markerov, ako je alkalická fosfatáza (ALP) a osteokalcín (OC) v prítomnosti kostného morfogenetického proteínu 2 (BMP-2), čo naznačuje synergické pôsobenie PEMF a BMP-2 [[55](#)]. Potom niekoľko ďalších autorov potvrdilo, že PEMF stimulujú osteogénnu diferenciáciu MSC odvodených z kostnej drene alebo tukového tkaniva aj v neprítomnosti BMP-2 [[56](#) , [57](#) , [58](#)]. Osteogénne účinky indukované PEMF boli pozorované v bunkách kultivovaných na plastoch alebo iných substrátoch, ako sú nanoštruktúrované titánové povrchy (TiO₂) [[59](#)] a biomateriály [[58](#) , [60](#)].

Aj keď sa všeobecne uznáva, že expozícia PEMF indukuje osteogénnu diferenciáciu MSC, signálne dráhy, ktoré sú základom takýchto účinkov, sú stále predmetom intenzívneho skúmania ([Tabuľka 2](#)).

Tabuľka 2

Účinky pulzných elektromagnetických polí na osteogénnu diferenciáciu mezenchymálnych kmeňových buniek (MSC).

Zdroj bunky	Parametre PEMF	Účinky PEMF
C3H10T1/2 myšacia línia mezenchymálnych kmeňových buniek	30 Hz, 1 mT, 2 h/deň počas 20 dní. Zariadenie EBI.	Zvýšte aktivitu ALP, mineralizáciu, Runx2, Osx [61] Zvýšte intracelulárnu koncentráciu Ca ²⁺ [61] Upregulujte Wnt1, fosfo-Lrp6 a β-katenín [61]
	26 Hz ELF-PEMF 7 min/deň počas 14 dní. Zariadenie Somagen®.	Zvýšte ALP, mineralizáciu, expresiu génov COL-I a OC [57] Zvýšte Akt, kinázu p70 S6, ribozomálny proteín S6 a fosforyláciu ERK1/2 [57]
Ľudské ADMSC	12 MHz mikrovlnná rúra a 30 mT PEMF, frekvenčný rozsah 50–400 Hz, 8 h/deň, 14 dní. Zariadenie STRC.	Zvýšte aktivitu ALP, mineralizáciu, expresiu génov ALP a Runx2 [58]
	30 dní, prístroj MED.	Zvýšte aktivitu ALP, mineralizáciu, expresiu génov ALP a OSP [62] Aktivovať cestu Akt a mTOR [62]
Ľudské parodontálne väzivové kmeňové bunky (hPDLSC)	Obdĺžniková vlna, 15 Hz, 1,8 alebo 2,4 mT, 1 h/deň. Zariadenie GHY-III.	Zvýšenie ALP, OPN, mineralizácia, Runx2 [63] Synergický efekt s BMP-9 [63]
Ľudské BM-MSC	Lichobežníková vlna, 75 Hz, 2 mT, 10 min/deň počas 28 dní.	Zvýšte expresiu génu Runx-2, COL-I, FN, OSP, Osx, OC, BMP-2, ALP; aktivita ALP; BMP-2, DCN, COL-I proteín v bunkách kultivovaných na nano-TiO ₂ povrchoch [59]
		Zvýšte expresiu napäťovo riadených Ca kanálov (VGCC) typu L [59]
		Zvýšte ALP, COL-I, OPN, DCN proteíny [64]
		Zvýšte toky Ca ²⁺ pomocou napäťovo riadených Ca kanálov typu L (VGCC) [65] Aktivácia dráhy Ca ²⁺ /CaM [65]

Zdroj bunky	Parametre PEMF	Účinky PEMF
		Zvýšte toky Ca ²⁺ pomocou napät'ovo riadených Ca kanálov typu L (VGCC) [65]
		Aktivácia dráhy Ca ²⁺ /CaM [65]
		Zvýšte aktivitu ALP, produkciu OC, mineralizáciu, Runx2, Dlx5 [66]
		Aktivujte SMAD1/5/8 a p38 MAPK [66]
		Zvýšte reguláciu BMP-2, BMP-6, BMP typu I receptora [66]
		Zvýšte aktivitu ALP, hladinu OC, mineralizáciu, expresiu génu Runx2, Dlx5, Osterix [67]
		Zvýšte expresiu Notch4, Dll4, Hey1, Hes1 a Hes5 [67]
		Zvýšte aktivitu ALP, produkciu OC, expresiu génov Runx2 a Dlx5 [68]
		Zvýšte expresiu miR-26a, miR-29b, miR-210 alebo extracelulárne uvoľňovanie [68]
		Zvýšte expresiu a uvoľňovanie VEGF [68]
	Asymetrická hemisínusová vlna, pulz 5 ms každých 5 s, 1 T, 3 min/deň, 1.–5. deň. Zariadenie Oriental Advance Technology.	Upregulácia Wnt1, Wnt3a, Wnt10b, Fzd9, BMP2 [69]
		Zníženie regulácie SOST [69]
		Zvýšte aktivitu ALP, mineralizáciu [69]

[Otvoriť v samostatnom okne](#)

Skratky: hodiny, h; minúty, min; Hertz: Hz; ALP, alkalická fosfatáza; COL-I, kolagén typu I; ELF-PEMF, extrémne nízkofrekvenčné pulzné elektromagnetické polia; FN, fibronektín; OSP, osteopontín; Runx2, transkripčný faktor 2 súvisiaci s runtom; Osx, osterix; DCN, dekorín; Dlx5, distálny homeobox 5; VEGF, vaskulárno-endoteliálny rastový faktor.

Za primárny bunkový cieľ PEMF sa dlho považovala bunková membrána. V skutočnosti jeden z prvých objavov týkajúcich sa molekulárnych mechanizmov PEMF identifikoval zmeny v tokoch Ca²⁺, najmä v dôsledku napät'ovo riadených kalciových kanálov typu L (VGCC) a následnej aktivácie dráhy Ca²⁺/CaM [64]. Zvýšenie

intracelulárnej koncentrácii vápnika indukované PEMF bolo hlásené aj v hMSC ako skorá udalosť počas stimulácie osteogénnej diferenciácie [65]. Doposiaľ však presný mechanizmus spájajúci PEMF, vápnik a osteogénu nie je úplne objasnený, pravdepodobne kvôli zložitým mechanizmom regulujúcim influx vápnika a stále nepolapiteľným úlohám toku vápnika a L-VGCC počas osteogénnej diferenciácie [70] .

Niekoľko štúdií preukázalo, že stimulácia PEMF významne zvyšuje proosteogénnu aktivitu členov rodiny génov TGF- β , vrátane BMP-2 a -4. Nedávno v MSC ľudskej kostnej drene (hBM-MSC) Martini et al. potvrdili kombinovanú osteogénnu aktivitu PEMF a BMP-2 [55 , 56 , 66] v prítomnosti nízkych dávok BMP-2. Okrem toho autori ukázali, že účinky PEMF súviseli so zvýšenou génovou expresiou niekoľkých signálnych komponentov BMP vrátane BMP-2, BMP-6, receptora BMP typu I a s aktiváciou SMAD1/5/8, hlavného hráča v kanonická signálna dráha BMP [66]. Synergické účinky na osteogénnu diferenciáciu kmeňových buniek periodontálneho ligamentu (hPDLSC) boli tiež pozorované po kombinovanej liečbe PEMF a BMP-9, ďalšej zložky rodiny BMP [63] .

Niekoľko štúdií tiež opísalo účinky stimulácie PEMF na signálnu dráhu Wnt / β -katenínu. Účasť Wnt/ β -katenínu na osteogénnej diferenciácii MSC indukovanej PEMF bola pozorovaná v rôznych bunkových modeloch [61 , 69] . Lin a kol. (2015) ukázali, že jednopulzný EMF indukuje osteogénnu diferenciáciu v hBM-MSC moduláciou exprese komponentov signálnej dráhy Wnt. Konkrétne, jednopulzný EMF zvýšil expresiu niekoľkých Wnt ligandov, ako sú Wnt1, Wnt3a, Wnt10b, Fzd9, zatiaľ čo downreguloval sklerostín, známy inhibítor signalizácie Wnt [71]. Nedávno sa v línii myších mezenchymálnych kmeňových buniek C3H10T1/2 ukázalo, že PEMF indukujú génovú expresiu a syntézu proteínov zložiek Wnt/ β -katenínovej dráhy, ako aj zvýšenie intracelulárnej koncentrácii Ca^{2+} , čo naznačuje spojenie medzi Signalizácia Wnt/ Ca^{2+} (nekanonická dráha) a Wnt- β -katenín (kanonická dráha) počas osteogénnej diferenciácie indukovanej PEMF [61] .

Ďalšie signálne dráhy zapojené do osteogénnej diferenciácie indukovanej PEMF zahŕňajú dráhu MAPK/ERK, o ktorej je tiež známe,

že sa podieľa na diferenciácii kostných buniek a procesoch opravy kostí. Signálna dráha MAPK zahŕňa triedu proteínkináz, ktoré prostredníctvom kaskádovej reakcie aktivujú transkripčné faktory a regulujú génovú expresiu a diferenciáciu [53 , 72]. Niekoľko štúdií ukázalo zapojenie kaskády MEK/ERK do osteogénnej diferenciácie indukovanej PEMF v ľudských MSC [57 , 66]. V hADMSC, Poh a kol. hlásili zvýšené hladiny fosforylovanej Akt, p70 S6 kinázy, S6 ribozomálneho proteínu a ERK1/2 krátko po expozícii PEMF, čo naznačuje, že kombinácia aktivácie ERK a Akt v reakcii na extrémne nízkofrekvenčné pulzné elektromagnetické polia (ELF-PEMF) podporovala rast hADMSC a prežitie [57]. Na druhej strane, aktivácia p38 MAPK, z veľkej časti skúmaná pre svoju úlohu pri modulácii osteogénneho hlavného génu Runx2 [72], bola nedávno hlásená počas diferenciácie hBM-MSK indukovanej PEMF [66].

Okrem toho bola hlásená aktivácia signalizácie PI3K / Akt v hMSC pri osteogénnej indukcii PEMF. Zhang a kol. opísali zvýšené hladiny fosforylovaného Akt, fosforylovaného GSK3 β a jadrového β -katenínu a naznačili os Akt/GSK3 β / β -katenínu zapojenú do osteogénnej diferenciácie indukovanej PEMF [54]. Účasť Akt bola hlásená aj v osteogénnej diferenciácii hADMSC indukovanej signálmi ELF-PEMF pomocou intracelulárneho signálneho poľa PathScan [57]. V rovnakom bunkovom modeli sa akt upregulácia podieľa na aktivácii mTOR dráhy identifikovanej počas PEMF-indukovanej osteogénnej diferenciácie pri fyziologických aj zápalových stavoch [62].

Notch signalizácia je ďalšou relevantnou signálnou dráhou skúmanou počas PEMF stimulovanej osteogénnej diferenciácie [67]. Je známe, že táto vysoko evolučne zachovaná dráha sa podieľa na hojení kostí [73]. V hBM-MSK Bagheri a kol. ukázali, že osteogénna diferenciácia zosilnená PEMF je spojená so zvýšenou expresiou niekoľkých zložiek Notch dráhy, ako sú Notch4, Dll4, Hey1, Hes1 a Hes5. Okrem toho liečba inhibítormi Notch znížila účinky PEMF, čo naznačuje, že na osteogénnu diferenciáciu stimulovanú PEMF je potrebná aktivácia dráhy Notch [67].

Napokon, mimoriadne zaujímavé sú údaje uvádzajúce schopnosť PEMF modulovať relevantné epigenetické regulátory, ako sú miRNA, počas PEMF-indukovanej osteogénnej diferenciácie

hBM-MSC. Konkrétne De Mattei a kol. ukázali, že PEMF by mohli zvýšiť expresiu a extracelulárne uvoľňovanie miR-26a, miR-29b, miR-218, ktoré sa predtým podieľali na osteogenéze aj angiogenéze [68] .

[Ísť do:](#)

7. Terapeutické dôsledky pre hojenie kostí

Nové dôkazy ukazujú, že stimulácia PEMF predstavuje bezpečný neinvazívny prístup na podporu opravy kostí a optimalizáciu inžinierstva kostného tkaniva. Štúdie uvedené vyššie skúmali molekulárne mechanizmy, ktoré sú základom účinkov PEMF na MSC. Globálne výsledky týchto štúdií ukazujú, že PEMF pôsobia moduláciou signálnych dráh s dobre zavedenými úlohami pri oprave kosti [53] a otvárajú niekoľko nových perspektív pre terapeutické prístupy k oprave kostí.

Predovšetkým sa javí ako obzvlášť dôležité pozorovanie, že PEMF modulujú signalizáciu BMP a zvyšujú osteogénne účinky nízkych dávok BMP-2 [66]. V skutočnosti, keďže liečba BMP-2 je v súčasnosti schválená pre terapiu kostí, tieto výsledky podporujú myšlienku, že kombinované použitie PEMF a BMP-2 môže byť užitočné pri ortopedickej liečbe s potenciálnou výhodou obmedzenia klinických vedľajších účinkov BMP-2, pravdepodobne súvisí s vysokými použitými dávkami BMP-2, ako aj so znížením nákladov na liečbu BMP-2.

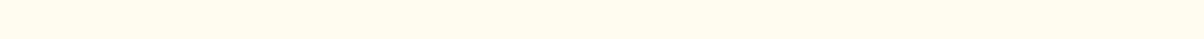
Okrem toho niekoľko ďalších štúdií ukázalo, že PEMF stimulujú signálnu dráhu Wnt, ktorá sa bežne aktivuje počas hojenia kostí a v súčasnosti sa skúma ako cieľ farmakologickej intervencie. Keďže Wnt dráha je negatívne modulovaná endogénnymi molekulami, ako je sklerostín (SOST), molekuly zamerané na SOST, ako sú protilátky SOST (Scl-Ab) a chlorid lítny (LiCl), sú v súčasnosti v klinických štúdiách [71] . Na tomto základe možno predpokladať terapie kombinujúce PEMF s modulačnými molekulami Wnt [74]. V súčasnosti sa skutočne skúmajú kombinované terapie vrátane liečby lokálnym BMP a protilátkami proti inhibítorom signalizácie Wnt.

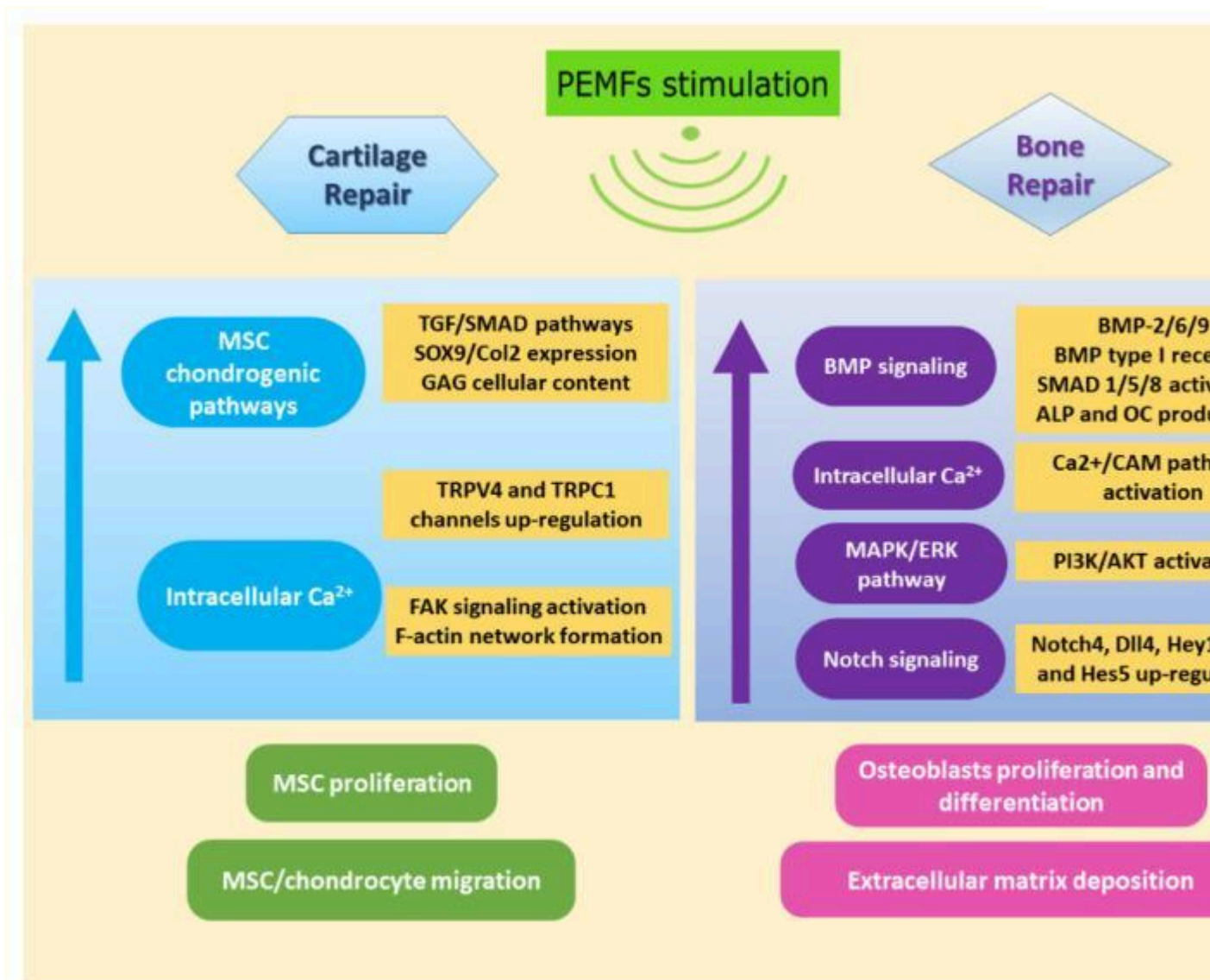
Podobne výsledky ukazujúce zapojenie signalizácie Notch do osteogénnej diferenciácie indukovanej PEMF naznačujú nové prístupy k oprave kostí [67]. Hoci sa o úlohe Notch signalizácie pri oprave kosti diskutovalo a nie je úplne objasnená, niektoré nedávne výsledky in vivo potvrdili relevantnú úlohu tejto dráhy pri hojení zlomenín [73]. V súlade s týmito zisteniami sa ukázalo, že skafoldy naplnené Notch ligandom Jagged-1 podporujú osteogézu a podporujú tvorbu kosti na zvieracích modeloch kostných defektov [75 , 76]. Nakoniec, novoobjavená schopnosť PEMF modulovať miRNA zapojené do osteogézy si zaslúži ďalšie skúmanie, aby sa odhalil ich potenciál pre transláciu do terapeutických prístupov [68].

[Ísť do:](#)

8. Diskusia

Obnova kostných defektov kritickej veľkosti a oprava lézií kĺbovej chrupavky predstavujú pre ortopedického chirurga veľké výzvy. [Obrázok 2](#) ukazuje prehľad účinkov PEMF z hľadiska opravy chrupavky a hojenia kostí.





Obrázok 2

Účinky stimulácie PEMF na MSC z hľadiska opravy chrupavky (ľavý panel) a kosti (pravý panel).

Kostné štepovanie je bežne používaný chirurgický postup na opravu kosti, ktorý využíva tri typy štepov: autoštep, aloštep a syntetické štep. Tkanivové inžinierstvo predstavuje sľubnú stratégiu na prekonanie obmedzení aplikácie štepov a rastúci dopyt po kostných štepoch. Inžinierstvo kostného tkaniva sa spolieha na troch hlavných hráčov: bunkovú zložku, skelet a osteogénne faktory [77]. Súhrnne niekoľko dôkazov podporuje osteogénny účinok PEMF na MSC izolované z rôznych zdrojov, čo naznačuje synergický efekt s aplikáciou skeletov a/alebo osteogénnych rastových faktorov [78]. PEMF sa môžu použiť na podporu kolonizácie implantátu MSC, podporujúc ich proliferáciu a osteogénnu diferenciáciu [59]. Po

implantácii PEMF podporujú lepšiu integráciu štepu a inhibujú aktivitu osteoklastov, čím chránia novovytvorenú kosť pred degradáciou a zvyšujú osteogénny regeneračný potenciál rezidentných MCS [79]. Nedávne pokroky v znalostiach signalizácie modulovanej PEMF podporujú ďalšie skúmanie použitia PEMF samotných alebo v kombinácii s osteogénnymi molekulami a/alebo biomateriálom, ktoré otvára niekoľko perspektív pre terapie na opravu kostí a optimalizáciu TE prístupov.

TE chrupavky na opravu lézií kĺbovej chrupavky je atraktívnou príležitosťou; stále však zostáva niekoľko obmedzení: opravené tkanivo nedokáže reprodukovať biomechanické vlastnosti natívnej chrupavky, čo vedie k zlým klinickým výsledkom z dlhodobého hľadiska [6].

Úspech postupu TE môže podkopať niekoľko faktorov, medzi ktorými je lokálny zápal jedným z najnepriaznivejších. Lokálne mikroprostredie môže významne ovplyvniť in situ degradáciu, prežívanie a integráciu TE konštruktov a celkovo úspešnosť lokálnej reparačnej terapie [6]. Preto je kontrola prostredia po chirurgickom zákroku rozhodujúca pre zabezpečenie úspešného dlhodobého klinického výsledku.

Ukázalo sa, že PEMF stimulujú bunkovú proliferáciu a ukladanie extracelulárnej matrice, čo podporuje kolonizáciu skonštruovaného konštruktú a in vitro produkciu upraveného tkaniva s lepšími funkčnými a mechanickými vlastnosťami [51]. In vivo po chirurgickej implantácii konštruktú stimulácia PEMF podporuje anabolické aktivity MSC a rezidentných buniek a má silný protizápalový účinok, čím chráni skonštruovaný konštrukt pred škodlivými účinkami zápalu [51 , 80].

V rôznych in vitro štúdiách sa ukázalo, že stimulácia PEMF je účinná prostredníctvom modulácie AR a následného zníženia uvoľňovania zápalových mediátorov [81]. Je zaujímavé, že PEMF prostredníctvom zvýšenia AR_{A2A} a AR_{A3} zosilňujú účinok endogénneho adenosínu, čo vedie k fyziologickejšim účinkom v porovnaní s tradičnými liekmi. V dôsledku toho by protizápalový účinok adenosínu zosilnený PEMF nebol sprevádzaný vedľajšími účinkami, desenzibilizáciou receptora a

downreguláciou [82]. Tieto pozorovania modulácie adenožínerného systému naznačujú, že PEMF môžu predstavovať atraktívnu stratégiu v kontexte „mäkkej farmakológie“ ako neinvazívnej liečby schopnej zvýšiť účinok endogénneho liečiva.

Bolo tiež hlásené, že stimulácia PEMF podporuje migráciu MSC [47], takže náborom endogénnych MSC do miesta defektu môžu PEMF ďalej zlepšiť šance na úspech TE prístupov. V poslednom čase vzbudila značný záujem schopnosť MSC ovplyvňovať okolité prostredie prostredníctvom sekrécie množstva regulačných molekúl [2]. Prostredníctvom svojej sekrečnej aktivity sú MSC schopné vykonávať protizápalové a regeneračné aktivity. PEMF zvyšujú sekrečnú aktivitu MSC, a najmä Parate et al. ukázali, že sekretóm odvodený z PEMF stimulovaných MSC by mohol podporovať regeneráciu chrupavky [49]. Tieto údaje naznačujú možnosť použiť stimuláciu PEMF na zvýšenie regeneračného potenciálu sekrečných produktov odvodených od MSC ako bezbunkového terapeutika na poranenie kĺbov a osteoartritídu.

Celkovo vedecké dôkazy naznačujú, že stratégie na opravu tkaniva pre muskuloskeletálny systém by mali počítať s použitím PEMF ako: (1) in vitro: na podporu tvorby umelo vytvoreného konštrukt so zlepšenými funkčnými a mechanickými vlastnosťami; (2) in vivo: (i) na podporu integrácie štetu; (ii) lokálne kontrolovať prostredie po implantácii, chrániť skonštruovaný konštrukt pred katabolickou aktivitou zápalových mediátorov a (iii) stimulovať opravu tkaniva z implantovaných a rezidentných buniek buď priamym pôsobením, alebo prostredníctvom parakrinného účinku vyvolaného MSC.

[Ísť do:](#)

Skratky

MSC	Mezenchymálne kmeňové bunky
-----	-----------------------------

hBM-MS C	Mezenchymálne kmeňové bunky ľudskej kostnej drene
hADMSC	Mezenchymálne kmeňové bunky odvodené z ľudskeho tukového tkaniva
hPDLSC	Ľudské parodontálne väzivové kmeňové bunky
PEMF	Pulzné elektromagnetické polia
TE	tkanivové inžinierstvo
BMP-2	Kostný morfogenetický proteín-2
EMF	Elektromagnetické pole
BMP	Kostné morfogenetické proteíny
TGF-p	Transformujúci rastový faktor beta
MAPK	Mitogénom aktivované proteínkinázy

ALP	Alkalický fosfát
OC	Osteokalcín
SOST	Sclerostin
VEGF	Vaskulárny-endoteliálny rastový faktor
Ca ²⁺ /CaM	Ca ²⁺ /kalmodulín

[Ísť do:](#)

Autorské príspevky

Konceptualizácia, KV a MDM; Písanie – príprava pôvodného návrhu, SS, FV a MDM; Príprava obrázku a tabuľky, SP a IB; Písanie – recenzia a úprava, KV, FV, SS, MC a MDM Všetci autori si prečítali a súhlasili s publikovanou verziou rukopisu.

[Ísť do:](#)

Financovanie

Tento výskum nezískal žiadne externé financovanie.

[Ísť do:](#)

Vyhlásenie inštitucionálnej revíznej rady

Nepoužiteľné.

[Ísť do:](#)

Vyhlásenie informovaného súhlasu

Nepoužiteľné.

[Ísť do:](#)

Vyhlásenie o dostupnosti údajov

Zdieľanie údajov sa nevzťahuje.

[Ísť do:](#)

Konflikt záujmov

KV, FV, SP, IB a MDM nevyhlasujú žiadny konflikt záujmov. SS je zamestnancom IGEA SpA. MC je viceprezidentom spoločnosti IGEA SpA

[Ísť do:](#)

Poznámky pod čiarou

Poznámka vydavateľa: MDPI zostáva neutrálny, pokiaľ ide o jurisdikčné nároky v publikovaných mapách a inštitucionálnych pridruženíach.

[Ísť do:](#)

Referencie

1. Pittenger MF multilineage potenciál dospelých ľudských mezenchymálnych kmeňových buniek. *Veda*. 1999; 284 :143-147. doi: 10.1126/science.284.5411.143. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
2. Braga Osorio Gomes Salgado AJ, Goncalves Reis RL, Jorge Carvalho Sousa N., Gimble JM, Salgado AJ, Reis RL, Sousa N. Sekretóm kmeňových buniek odvodených z adipózneho tkaniva: rozpustné faktory a ich úlohy v regeneratívnej medicíne. *Curr. Stem Cell Res*. 2010; 5 :103-110. doi: 10.2174/157488810791268564. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

3. Escacena N., Quesada-Hernández E., Capilla-Gonzalez V., Soria B., Hmadcha A. Úzke miesta v efektívnom používaní pokrokových terapeutických liekov založených na mezenchymálnych stromálnych bunkách. *Stem Cells Int.* 2015; 2015 : 1.–12. doi: 10.1155/2015/895714. [[bezplatný článok PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
4. Hassan MNFB, Yazid MD, Yunus MHM, Chowdhury SR, Lokanathan Y, Idrus RBH, Ng AMH, Law JX Large-Scale Expansion of Human Mezenchymal Stem Cells. *Stem Cells Int.* 2020; 2020 : 1.–17. doi: 10.1155/2020/9529465. [[bezplatný článok PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
5. Oryan A., Kamali A., Moshiri A., Baghaban Eslaminejad M. Úloha mezenchymálnych kmeňových buniek v kostnej regeneračnej medicíne: Aký je dôkaz? *Bunky Tkanivá Orgány.* 2017; 204 :59-83. doi: 10.1159/000469704. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
6. Richter W. Mezenchymálne kmeňové bunky a regenerácia chrupavky in situ. *J. Intern. Med.* 2009; 266 :390-405. doi: 10.1111/j.1365-2796.2009.02153.x. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
7. Mamidi MK, Das AK, Zakaria Z., Bhonde R. Mezenchymálne stromálne bunky na opravu chrupavky pri osteoartritíde. *Osteoartróza. Košík.* 2016; 24 :1307-1316. doi: 10.1016/j.joca.2016.03.003. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
8. Massari L., Benazzo F., Falez F., Perugia D., Pietrogrande L., Setti S., Osti R., Vaienti E., Ruosi C., Cadossi R. Biophysical Stimulation of Bone and Cartilage: State of Umenie a perspektívy do budúcnosti. *Int. Ortop.* 2019; 43 :539-551. doi: 10.1007/s00264-018-4274-3. [[bezplatný článok PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
9. Bassett CA, Pawluk RJ, Pilla AA Augmentácia opravy kostí pomocou indukčne viazaných elektromagnetických polí. *Veda.* 1974; 184 :575-577. [[PubMed](#)] [[Študovňa Google](#)]
10. Fukada E., Yasuda I. O piezoelektrickom účinku kosti. *J. Phys. Soc. Jpn.* 1957; 12 :1158-1162. doi: 10.1143/JPSJ.12.1158. [[CrossRef](#)] [[Študovňa Google](#)]
11. Bassett CA, Becker RO Generovanie elektrických potenciálov kosťou v reakcii na mechanické napätie. *Veda.* 1962; 137 :1063-1064. doi: 10.1126/science.137.3535.1063. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
12. Bassett CA In: *Biologické účinky elektrických a magnetických polí.* Carpenter DO, Aïrapetján SN, redaktori. Academic Press; San Diego, CA, USA: 1994. [[Google Scholar](#)]

13. Massari L., Benazzo F., Moretti B., Dallari D., Perugia D., Meani E., Cadossi R. Electrical Stimulation of Osteogenesis: Efficacy and Technologies Compared. *GIOT*. 2011; 6 :1-8. [[Študovňa Google](#)]
14. Simonis RB, Parnell EJ, Ray PS, Peacock JL Electrical Treatment of Tibial Non-Union: A Prospective, Randomised, Double-Blind Trial. *Zranenie*. 2003; 34 :357-362. doi: 10.1016/S0020-1383(02)00209-7. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
15. Shi H., Xiong J., Chen Y., Wang J., Qiu X., Wang Y., Qiu Y. Včasná aplikácia pulzného elektromagnetického poľa pri liečbe pooperačného oneskoreného spojenia zlomenín dlhých kostí: perspektíva Randomizovaná kontrolovaná štúdia. *Muskuloskeletálny systém BMC. Porucha*. 2013:14. doi: 10.1186/1471-2474-14-35. [[bezplatný článok PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
16. Faldini C., Cadossi M., Luciani D., Betti E., Chiarello E., Giannini S. Elektromagnetická stimulácia rastu kostí u pacientov s zlomeninami krčka stehnovej kosti liečenými skrútkami: Prospektívna randomizovaná dvojito zaslepená štúdia. *Curr. Ortop. Prax*. 2010; 21 :282-287. doi: 10.1097/BCO.0b013e3181d4880f. [[CrossRef](#)] [[Študovňa Google](#)]
17. Iaquinta MR, Mazzoni E., Bononi I., Rotondo JC, Mazziotta C., Montesi M., Sprio S., Tampieri A., Tognon M., Martini F. Dospelé kmeňové bunky na regeneráciu a opravu kostí. *Predné. Cell Dev. Biol*. 2019; 7 :268. doi: 10.3389/fcell.2019.00268. [[bezplatný článok PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
18. Borea PA, Gessi S., Merighi S., Vincenzi F., Varani K. Farmakológia adenzínových receptorov: Stav techniky. *Physiol. Rev*. 2018; 98 :1591-1625. doi: 10.1152/physrev.00049.2017. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
19. Borea PA, Gessi S., Merighi S., Vincenzi F., Varani K. Patologická nadprodukcia: zlá stránka adenzínu: zlé stránky adenzínu. *Br. J. Pharm*. 2017; 174 :1945-1960. doi: 10.1111/bph.13763. [[bezplatný článok PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
20. Borea PA, Gessi S., Merighi S., Varani K. Adenzín ako multisignálny anjel strážny pri ľudských chorobách: Kedy, kde a ako uplatňuje svoje ochranné účinky? *Trends Pharm. Sci*. 2016; 37 :419-434. doi: 10.1016/j.tips.2016.02.006. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
21. Noronha-Matos JB, Correia-de-Sá P. Starnutie mezenchymálnych kmeňových buniek: Zameranie sa na „purínóm“ na podporu osteogénnej diferenciácie a opravy kostí: OSTEOGÉNNÁ DIFERENCIÁCIA STARNUTÝCH MSC PODĽA PURÍNOV. *J. Cell. Physiol*. 2016; 231 :1852-1861. doi: 10.1002/jcp.25303. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

22. Costa MA, Barbosa A., Neto E., Sá-e-Sousa A., Freitas R., Neves JM, Magalhães-Cardoso T, Ferreirinha F, Correia-de-Sá P. O úlohe podtypu Selektívne agonisty adenosínových receptorov počas proliferácie a osteogénnej diferenciácie ľudských primárnych stromálnych buniek kostnej drene. *J. Cell. Physiol.* 2011; 226 :1353-1366. doi: 10.1002/jcp.22458. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
23. Pinto-Cardoso R., Pereira-Costa F., Pedro Faria J., Bandarrinha P, Bessa-Andrês C., Correia-de-Sá P, Bernardo Noronha-Matos J. Adenozinergná signalizácia v chondrogenéze a homeostáze chrupavky : Priateľ alebo nepriateľ? *Biochem. Pharm.* 2020; 174 :113784. doi: 10.1016/j.bcp.2019.113784. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
24. Tesch AM, MacDonald MH, Kollias-Baker C., Benton HP endogénne produkovaný adenosín reguluje homeostázu matrice artikúlárnej chrupavky: enzymatické vyčerpanie adenosínu stimuluje degradáciu matrice. *Osteoartróza. Cartil.* 2004; 12 :349-359. doi: 10.1016/j.joca.2004.01.002. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
25. Corciulo C., Lendhey M., Wilder T., Schoen H., Cornelissen AS, Chang G., Kennedy OD, Cronstein BN Endogénny adenosín udržiava homeostázu chrupavky a exogénny adenosín inhibuje progresiu osteoartritídy. *Nat. komun.* 2017; 8 :15019. doi: 10.1038/ncomms15019. [[bezplatný článok PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
26. Chrobak P., Charlebois R., Rejtar P., El Bikai R., Allard B., Stagg J. CD73 hrá ochrannú úlohu pri artritíde vyvolanej kolagénom. *J. Immunol.* 2015; 194 :2487-2492. doi: 10,4049/jimmunol.1401416. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
27. Song L., Webb NE, Song Y., Tuan RS Identifikácia a funkčná analýza kandidátskych génov regulujúcich samoobnovu mezenchymálnych kmeňových buniek a multipotenciu. *Kmeňové bunky.* 2006; 24 :1707-1718. doi: 10.1634/stemcells.2005-0604. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
28. Mediero A., Cronstein BN Adenosín a kostný metabolizmus. *Trendy Endocrinol. Metab.* 2013; 24 :290-300. doi: 10.1016/j.tem.2013.02.001. [[bezplatný článok PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
29. Bar-Yehuda S., Rath-Wolfson L., Del Valle L., Ochaion A., Cohen S., Patoka R., Zozulya G., Barer F., Atar E., Piña-Oviedo S., et al. Indukcia protizápalového účinku a prevencia poškodenia chrupavky pri osteoartritíde kolena potkanov liečbou CF101. *Arthritis Rheum.* 2009; 60 :3061-3071. doi: 10.1002/art.24817. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

30. Shkhyan R., Lee S., Gullo F., Li L., Peleli M., Carlstrom M., Chagin AS, Banks NW, Limfat S., Liu NQ a kol. Genetická ablácia adenožínového receptora A3 vedie k degenerácii kĺbovej chrupavky. *J. Mol. Med.* 2018; 96 :1049-1060. doi: 10.1007/s00109-018-1680-3. [[bezplatný článok PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
31. Varani K., Gessi S., Merighi S., Iannotta V., Cattabriga E., Spisani S., Cadossi R., Borea PA Vplyv nízkofrekvenčných elektromagnetických polí na adenožínové receptory A_{2A} v ľudských neutrofiloch. *Br. J. Pharm.* 2002; 136 :57-66. doi: 10.1038/sj.bjp.0704695. [[bezplatný článok PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
32. Varani K., De Mattei M., Vincenzi F., Gessi S., Merighi S., Pellati A., Ongaro A., Caruso A., Cadossi R., Borea PA Charakterizácia adenožínových receptorov v bovinných chondrocytoch a fibroblastoch -podobné synoviocyty vystavené nízkofrekvenčným nízkoenergetickým pulzným elektromagnetickým poliam. *Osteoartróza. Cartil.* 2008; 16 :292-304. doi: 10.1016/j.joca.2007.07.004. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
33. De Mattei M., Varani K., Masieri FF, Pellati A., Ongaro A., Fini M., Cadossi R., Vincenzi F., Borea PA, Caruso A. Analógy adenožínu a elektromagnetické polia inhibujú uvoľňovanie prostaglandínu E2 v Synoviálne fibroblasty hovädzieho dobytká. *Osteoartróza. Cartil.* 2009; 17 :252-262. doi: 10.1016/j.joca.2008.06.002. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
34. Varani K., Vincenzi F., Tosi A., Targa M., Masieri F., Ongaro A., De Mattei M., Massari L., Borea P. Expresia a funkčná úloha adenožínových receptorov pri regulácii zápalových reakcií v Ľudske synoviocyty: adenožínové receptory v ľudských synoviocytoch. *Br. J. Pharm.* 2010; 160 :101-115. doi: 10.1111/j.1476-5381.2010.00667.x. [[bezplatný článok PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
35. Ongaro A., Varani K., Masieri FF, Pellati A., Massari L., Cadossi R., Vincenzi F., Borea PA, Fini M., Caruso A. a kol. Elektromagnetické polia (EMF) a adenožínové receptory modulujú uvoľňovanie prostaglandínu E2 a cytokínov v ľudských osteoartritických synoviálnych fibroblastoch. *J. Cell. Physiol.* 2012; 227 :2461-2469. doi: 10.1002/jcp.22981. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
36. Vincenzi F., Targa M., Corciulo C., Gessi S., Merighi S., Setti S., Cadossi R., Goldring MB, Borea PA, Varani K. Pulzné elektromagnetické polia zvýšili protizápalový účinok A_{2A} a A₃ adenožínové receptory v ľudských T/C-28a2 chondrocytoch a HFOB 1.19 osteoblastoch. *PLoS ONE.* 2013; 8 :e65561. doi: 10.1371/journal.pone.0065561. [[bezplatný článok PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
37. Mayer-Wagner S., Passberger A., Sievers B., Aigner J., Summer B., Schiergens TS, Jansson V., Müller PE Účinky nízkofrekvenčných elektromagnetických polí na

chondrogénnu diferenciáciu ľudských mezenchymálnych kmeňových buniek. *Bioelektromagnetické*. 2011; 32 :283-290. doi: 10.1002/bem.20633. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

38. Chen C.-H., Lin Y.-S., Fu Y.-C., Wang C.-K., Wu S.-C., Wang G.-J., Eswaramoorthy R., Wang Y.-H., Wang C.-Z., Wang Y.-H., a kol. Elektromagnetické polia zlepšujú chondrogenézu kmeňových buniek získaných z ľudského tukového tkaniva v chondrogénom mikroprostredí in vitro. *J. Appl. Physiol.* 2013; 114 :647-655. doi: 10.1152/jappphysiol.01216.2012. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

39. Esposito M., Lucariello A., Costanzo C., Fiumarella A., Giannini A., Riccardi G., Riccio I. Diferenciácia mezenchymálnych kmeňových buniek odvodených z ľudskej pupočnej šnúry, WJ-MSC, na chondrogénne bunky v prítomnosti pulzných elektromagnetických polí. *Vivo Atény Grécko*. 2013; 27 :495-500. [[PubMed](#)] [[Študovňa Google](#)]

40. Kavand H., Haghhipour N., Zeynali B., Seyedjafari E., Abdemami B. Extrémne nízko-frekvenčné elektromagnetické pole v mezenchymálnych kmeňových bunkách Génová regulácia: Hodnotenie chondrogénnych markerov: Chondrogénne markery ako ciele EMF. *Artif. Orgány*. 2016; 40 :929-937. doi: 10.1111/aor.12696. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

41. Chen X., Qin Z., Zhao J., Yan X., Ye J., Ren E., Wang J., Yang X., Heng S., Zheng L. a kol. Stimuly pulzného magnetického poľa môžu podporovať chondrogénnu diferenciáciu mezenchymálnych kmeňových buniek superparamagnetických oxidov železa označených nanočasticami u potkanov. *J. Biomed. Nanotechnol.* 2018; 14 :2135-2145. doi: 10.1166/jbn.2018.2644. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

42. Wang J., Tang N., Xiao Q., Zhang L., Li Y., Li J., Wang J., Zhao Z., Tan L. Pulzné elektromagnetické pole sa môže zrýchliť in vitro endochondrálna osifikácia: PEMF stimulácia Endochondrálna osifikácia. *Bioelektromagnetické*. 2015; 36 :35-44. doi: 10.1002/bem.21882. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

43. Parate D., Franco-Obregón A., Fröhlich J., Beyer C., Abbas AA, Kamarul T, Hui JHP, Yang Z. Enhancement of Mezenchymal Stem Cell Chondrogenesis with Short-Term Low Intensity Pulsed Electromagnetic Fields. *Sci. Rep.* 2017; 7 :9421. doi: 10.1038/s41598-017-09892-w. [[bezplatný článok PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

44. Somogyi C., Matta C., Foldvari Z., Juhász T., Katona É., Takács Á., Hajdú T., Dobrosi N., Gergely P., Zákány R. Polymodal Transient Receptor Potential Vanilloid (TRPV) Ion Kanály v chondrogénnych bunkách. *Int. J. Mol. Sci.* 2015; 16 :18412-18438. doi: 10.3390/ijms160818412. [[bezplatný článok PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

45. Gavenis K., Schumacher C., Schneider U., Einfeld J., Mollenhauer J., Schmidt-Rohlfing B. Expresia iónových kanálov rodiny TRP v artikulárnych chondrocytoch od pacientov s osteoartrózou: Zmeny medzi natívnymi a in vitro propagovanými chondrocytmi . *Mol. Bunka. Biochem.* 2009; 321 :135-143. doi: 10.1007/s11010-008-9927-x. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
46. Ongaro A., Pellati A., Setti S., Masieri FF, Aquila G., Fini M., Caruso A., De Mattei M. Elektromagnetické polia pôsobia proti IL-1 β aktivite počas chondrogenézy boviných mezenchymálnych kmeňových buniek: EMP Pôsobte proti IL-1 p počas chondrogenézy. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 2015; 9 :E229–E238. doi: 10.1002/termín.1671. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
47. Zhang Y., Yan J., Xu H., Yang Y., Li W., Wu H., Liu C. Extrémne nízko-frekvenčné elektromagnetické polia podporujú migráciu mezenchymálnych kmeňových buniek zvýšením intracelulárneho Ca²⁺ a aktiváciou FAK/Rho GTPáz Signalizačné cesty in vitro. *Stem Cell Res.* 2018; 9 :143. doi: 10.1186/s13287-018-0883-4. [[bezplatný článok PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
48. Celik C., Franco-Obregón A., Lee EH, Hui JH, Yang Z. Smery magnetických polí a topografických lešení synergizujú na posilnenie chondrogenézy MSC. *Acta Biomater.* 2021; 119 :169. doi: 10.1016/j.actbio.2020.10.039. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
49. Parate D., Kadir ND, Celik C., Lee EH, Hui JHP, Franco-Obregón A., Yang Z. Pulzné elektromagnetické polia potencujú parakrinnú funkciu mezenchymálnych kmeňových buniek na regeneráciu chrupavky. *Stem Cell Res.* 2020; 11:46 . doi: 10.1186/s13287-020-1566-5. [[bezplatný článok PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
50. Veronesi F., Fini M., Giavaresi G., Ongaro A., De Mattei M., Pellati A., Setti S., Tschon M. Experimentálne indukovaná degenerácia chrupavky liečená stimuláciou pulzného elektromagnetického poľa; Štúdia in vitro o bovinej chrupavke. *Muskuloskeletálny systém BMC. Porucha.* 2015:16. doi: 10.1186/s12891-015-0760-6. [[bezplatný článok PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
51. Stefani RM, Barbosa S., Tan AR, Setti S., Stoker AM, Ateshian GA, Cadossi R., Vunjak-Novakovic G., Aaron RK, Cook JL, et al. Pulzné elektromagnetické polia podporujú opravu fokálnych defektov kĺbovej chrupavky pomocou umelých osteochondrálnych konštruktov. *Biotechnol. Bioeng.* 2020; 117 :1584-1596. doi: 10.1002/bit.27287. [[bezplatný článok PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
52. Glyn-Jones S., Palmer AJR, Agricola R., Price AJ, Vincent TL, Weinans H., Carr AJ Osteoartrída. *Lancet.* 2015; 386 :376-387. doi: 10.1016/S0140-6736(14)60802-3. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

53. Majidinia M., Sadeghpour A., Yousefi B. Úlohy signálnych dráh pri oprave a regenerácii kostí. *J. Cell. Physiol.* 2018; 233 :2937-2948. doi: 10.1002/jcp.26042. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
54. Zhang B., Xie Y., Ni Z., Chen L. Účinky a mechanizmy exogénneho elektromagnetického poľa na kostné bunky: Prehľad. *Bioelektromagnetické.* 2020; 41 :263-278. doi: 10.1002/bem.22258. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
55. Schwartz Z., Simon BJ, Duran MA, Barabino G., Chaudhri R., Boyan BD Pulsed Electromagnetic Fields Enhance BMP-2 Dependent Osteoblastic Differentiation of Human Mezenchymal Stem Cells. *J. Orthop. Res.* 2008; 26 :1250-1255. doi: 10.1002/jor.20591. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
56. Ongaro A., Pellati A., Bagheri L., Fortini C., Setti S., De Mattei M. Pulzné elektromagnetické polia stimulujú osteogénnu diferenciaciu v mezenchymálnych kmeňových bunkách odvodených z ľudskej kostnej drene a tukového tkaniva: PEMF o osteogénnej diferenciacii MSC . *Bioelektromagnetické.* 2014; 35 :426-436. doi: 10.1002/bem.21862. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
57. Poh PSP, Seeliger C., Unger M., Falldorf K., Balmayor ER, van Griensven M. Osteogénny efekt a aktivácia bunkovej signalizácie extrémne nízkofrekvenčných pulzných elektromagnetických polí v mezenchymálnych stromálnych bunkách odvodených z adipózy. *Stem Cells Int.* 2018; 2018 : 1.–11. doi: 10.1155/2018/5402853. [[bezplatný článok PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
58. Heydari Asl S., Hosseinpour H., Parivar K., Hayati Roodbari N., Hanaee-Ahvaz H. Fyzická stimulácia a zloženie lešenia účinne podporuje osteogénnu diferenciaciu mezenchymálnych kmeňových buniek. *Tkanivová bunka.* 2018; 50 :1–7. doi: 10.1016/j.tice.2017.11.001. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
59. Bloise N., Petecchia L., Ceccarelli G., Fassina L., Usai C., Bertoglio F., Balli M., Vassalli M., Cusella De Angelis MG, Gavazzo P. a kol. Vplyv vystavenia pulznému elektromagnetickému poľu na osteoindukciu ľudských mezenchymálnych kmeňových buniek kultivovaných na povrchoch Nano-TiO₂. *PLoS ONE.* 2018; 13 :e0199046. doi: 10.1371/journal.pone.0199046. [[bezplatný článok PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
60. Saino E., Fassina L., Van Vlierberghe S., Avanzini MA, Dubruel P., Magenes G., Visai L., Benazzo F. Účinky elektromagnetickej stimulácie na osteogénnu diferenciaciu ľudských mezenchymálnych stromálnych buniek nasadených na želatínový kryogel. *Int. J. Immunopathol. Pharm.* 2011; 24 :1–6. doi: 10.1177/03946320110241S201. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

61. Wu S., Yu Q., Lai A., Tian J. Pulzné elektromagnetické pole indukuje Ca²⁺-závislú osteoblastogénu v C3H10T1/2 mezenchymálnych bunkách prostredníctvom Wnt-Ca²⁺/Wnt-β-katenínovej signálnej dráhy. *Biochem. Biophys. Res. komun.* 2018; 503 :715-721. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.06.066. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
62. Ferroni L., Gardin C., Dolkart O., Salai M., Barak S., Piattelli A., Amir-Barak H., Zavan B. Pulzné elektromagnetické polia zvyšujú osteogenetický záväzok MSC prostredníctvom MTOR Pathway v TNF-α Sprostredkované zápalové stavy: Štúdia in vitro. *Sci. Rep.* 2018; 8 :5108. doi: 10.1038/s41598-018-23499-9. [[bezplatný článok PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
63. Wang T., Wang P., Cao Z., Wang X., Wang D., Shen Y., Jing D., Luo E., Tang W. Účinky BMP9 a pulzných elektromagnetických polí na proliferáciu a osteogénnu diferenciáciu ľudských parodontálnych väzivových kmeňových buniek: BMP9 a PEMF regulujú osteogénu na PDLSC. *Bioelektromagnetické.* 2017; 38 :63-77. doi: 10.1002/bem.22018. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
64. Elektromagnetické polia Pall ML pôsobia prostredníctvom aktivácie napäťovo riadených vápnikových kanálov, aby vyvolali priaznivé alebo nepriaznivé účinky. *J. Cell. Mol. Med.* 2013; 17 :958-965. doi: 10.1111/jcmm.12088. [[bezplatný článok PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
65. Petecchia L., Sbrana F., Utzeri R., Vercellino M., Usai C., Visai L., Vassalli M., Gavazzo P. Elektromagnetické pole podporuje osteogénnu diferenciáciu BM-HMSC prostredníctvom selektívneho pôsobenia na Ca²⁺ - Súvisiace mechanizmy. *Sci. Rep.* 2015; 5 :13856. doi: 10.1038/srep13856. [[bezplatný článok PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
66. Martini F., Pellati A., Mazzoni E., Salati S., Caruso G., Contartese D., De Mattei M. Signalizácia kostného morfogenetického proteínu-2 v osteogénnej diferenciácii mezenchymálnych kmeňových buniek ľudskej kostnej drene indukovanej pulzom Elektromagnetické polia. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21 :2104. doi: 10.3390/ijms21062104. [[bezplatný článok PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
67. Bagheri L., Pellati A., Rizzo P., Aquila G., Massari L., De Mattei M., Ongaro A. Vrubová dráha je aktívna počas osteogénnej diferenciácie mezenchymálnych kmeňových buniek ľudskej kostnej drene indukovanej pulznými elektromagnetickými poľami. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 2018; 12 :304-315. doi: 10.1002/term.2455. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
68. De Mattei M., Grassilli S., Pellati A., Brugnoli F., De Marchi E., Contartese D., Bertagnolo V. Pulzné elektromagnetické polia modulujú miRNA počas osteogénnej diferenciácie kostných mezenchymálnych kmeňových buniek: možná úloha v Osteogénno-angiogénna väzba. *Stem Cell Rev.*

Rep. 2020; 16 :1005-1012. doi: 10.1007/s12015-020-10009-6. [[PubMed](#)]
[[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

69. Lin C.-C., Lin R.-W., Chang C.-W., Wang G.-J., Lai K.-A. Jednopolzná terapia elektromagnetickým poľom zvyšuje osteogénnu diferenciáciu prostredníctvom signálnej dráhy Wnt a znížením sklerostínu: SPEMF zvyšuje rast kostí pomocou Wnt/Sost Control. *Bioelektromagnetické*. 2015; 36 :494-505. doi: 10.1002/bem.21933. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

70. Tan Y., Fei D., He X., Dai J., Xu R., Xu X., Wu J., Li B. Voltage-gated Calcium Channels typu L v kmeňových bunkách a tkanivovom inžinierstve. *Cell Prolif.* 2019; 52 doi: 10.1111/cpr.12623. [[bezplatný článok PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

71. Schupbach D., Comeau-Gauthier M., Harvey E., Merle G. Wnt Modulation in Bone Healing. *Kost'*. 2020; 138 :115491. doi: 10.1016/j.bone.2020.115491. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

72. Rodríguez-Carballo E., Gámez B., Ventura F. P38 MAPK Signaling in Osteoblast Differentiation. *Predné. Cell Dev. Biol.* 2016; 4 doi: 10.3389/fcell.2016.00040. [[bezplatný článok PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

73. Novak S., Roeder E., Sinder BP, Adams DJ, Siebel CW, Grcevic D., Hankenson KD, Matthews BG, Kalajzic I. Modulation of Notch1 Signaling Regulates Bone Fracture Healing. *J. Orthop. Res.* 2020; 38 :2350-2361. doi: 10.1002/jor.24650. [[bezplatný článok PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

74. Qian G., Wang M., Dong Y., Hong Y., Yu Y., Mei J. Vplyv kombinovanej liečby so stimuláciou pulzného elektromagnetického poľa a sklerostínovou monoklonálnou protilátkou na zmeny v kostnom metabolizme a augmentácii pedikulárnej skrutky u králikov s Osteoporóza vyvolaná ovariektómiou. *Ann. Palliat. Med.* 2020; 9:20 . doi: 10.21037/apm-20-473. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

75. Dishowitz MI, Zhu F., Sundararaghavan HG, Ifkovits JL, Burdick JA, Hankenson KD Jagged1 Imobilizácia na osteovodivý polymér aktivuje Notch Signaling Pathway a indukuje osteogenézu: Jagged1 indukuje osteogenézu. *J. Biomed. Mater. Res. A.* 2014; 102 :1558-1567. doi: 10.1002/jbm.a.34825. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

76. Youngstrom DW, Senos R., Zondervan RL, Brodeur JD, Lints AR, Young DR, Mitchell TL, Moore ME, Myers MH, Tseng W.-J. a kol. Intraoperačné podanie ligandu Notch Jagged-1 regeneruje defekty apendikulárnej a kraniofaciálnej kosti. *NPJ Regen. Med.* 2017; 2:32 . doi: 10.1038/s41536-017-0037-9. [[bezplatný článok PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

77. Shang F., Yu Y., Liu S., Ming L., Zhang Y., Zhou Z., Zhao J., Jin Y. Advancing Application of Mezenchymal Stem Cell-Based Bone Tissue Regeneration. *Bioact. Mater.* 2021; 6 :666-683. doi: 10.1016/j.bioactmat.2020.08.014. [[bezplatný článok PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
78. Azadian E., Arjmand B., Khodaii Z., Ardeshirylajimi A. Komplexný prehľad o využití elektromagnetických polí v regeneratívnej medicíne kostí. *Electromagn. Biol. Med.* 2019; 38 :1–20. doi: 10.1080/15368378.2019.1567527. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
79. Tschon M., Veronesi F., Contartese D., Sartori M., Martini L., Vincenzi F., Ravani A., Varani K., Fini M. Účinky pulzných elektromagnetických polí a plazmy bohatej na krvné doštičky v prevencii osteoklastogenézy v r. in vitro model osteolýzy. *J. Cell. Physiol.* 2018; 233 :2645-2656. doi: 10.1002/jcp.26143. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
80. Veronesi F., Cadossi M., Giavaresi G., Martini L., Setti S., Buda R., Giannini S., Fini M. Pulzné elektromagnetické polia kombinované s kolagénovým lešením a koncentrátom kostnej drene zosilňujú osteochondrálnu regeneráciu: An Štúdia in vivo. *Muskuloskeletálny systém BMC. Porucha.* 2015; 16 :233. doi: 10.1186/s12891-015-0683-2. [[bezplatný článok PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
81. Varani K., Vincenzi F., Ravani A., Pasquini S., Merighi S., Gessi S., Setti S., Cadossi M., Borea PA, Cadossi R. Adenozínové receptory ako biologická cesta pre anti- Zápalové a priaznivé účinky nízkofrekvenčných nízkoenergetických pulzných elektromagnetických polí. *Mediat. Inflamm.* 2017; 2017 : 1.–11. doi: 10.1155/2017/2740963. [[bezplatný článok PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
82. Varani K., Vincenzi F., Cadossi M., Setti S., Borea PA, Cadossi R. *The Adenosine Receptors*. Zväzok 34. Humana Press; Cham, Švajčiarsko: 2018. Úloha adenozínových receptorov v klinickej biofyzike na základe pulzných elektromagnetických polí. Receptory. [[CrossRef](#)] [[Študovňa Google](#)]