

УДК 6/6.72-018.3

Современные методы восстановления суставного гиалинового хряща при остеоартрите

**А.Л. Торгомян, А.К. Гамбарян, А.А. Асратян,
Д.Н. Худавердян**

*Кафедра физиологии ЕГМУ им. М.Гераци
0025, Ереван, ул. Корюна, 2*

Ключевые слова: остеоартрит, гиалиновый хрящ, хондроцит, регенерация хряща

Одной из актуальных и недостаточно разработанных проблем современной артрологии является лечение локальных травматических повреждений и заболеваний суставного хряща. Известно, что независимо от генеза повреждения хряща не обладают способностью спонтанного излечения, что может привести в дальнейшем к распространенному дегенеративному поражению сустава, прогрессивной потере хрящевой ткани и возникновению необратимых вторичных артрозных изменений [20]. Несмотря на значительные достижения в замене пораженных суставов, т.е. их эндопротезировании, бесспорным остается тот факт, что искусственные суставы не в состоянии в полной мере обеспечить долговечность и нормальную функцию синовиального сустава. Сложные структуры синовиального сустава, которые развивались и совершенствовались сотни миллионов лет, были сформированы в результате взаимодействия множества различных тканей: капсулы сустава, связок, менисков, субхондральной кости, синовиальной оболочки, гиалинового хряща. Все эти ткани в разной степени обладают способностью самовосстанавливаться и приспосабливаться к различным изменениям в функции сустава, обеспечивая в нем движения с меньшим уровнем трения, чем в любом самом совершенном искусственном механизме, включая эндопротезы суставов. Тканью, которая вносит наибольший вклад в функцию сустава и обладает экстраординарными функциональными возможностями, является гиалиновый хрящ [18].

Почти 250 лет врачи и ученые ищут хирургические пути восстановления суставных поверхностей синовиальных суставов после повреждения хряща. В последние 50 лет наметился некоторый прогресс в исследованиях, посвященных разработке методик хирургического восстановления суставного хряща при его повреждениях и заболеваниях. Основной зада-

чей при этом является обеспечение оптимальных условий для регенерации или репарации хрящевой ткани. Репарация подразумевает восстановление поврежденной суставной поверхности путем замещения дефекта хряща новой тканью, представляющей собой волокнистый хрящ, не способный полностью восстановить структуру и функцию нормального гиалинового суставного хряща. При регенерации формируется новая суставная поверхность, которая по существу представляет собой оригинальный гиалиновый хрящ [19]. Многочисленные экспериментальные и клинические исследования показали возможность лечения хряща с приостановлением его дальнейшего разрушения и даже с восстановлением.

Как известно, суставной хрящ обладает слабо выраженной регенераторной способностью. Являясь аваскулярной тканью, хрящ содержит единственный тип клеток, хондробласт-хондроцит, которые образуют три зоны: поверхностную, среднюю и глубокую. До сих пор были предприняты многочисленные попытки для разработки доступных терапевтических подходов, направленных на устранение воспаления и восстановление поврежденной хрящевой ткани. Данный обзор посвящен обсуждению проблемы регенерации суставного гиалинового хряща, который, являясь аваскулярной тканью, полностью лишен и нервных окончаний. Мы попытаемся разобраться в различных процедурах, используемых в настоящее время для активации регенерации суставного хряща, и определиться в вопросе перспектив таких исследований.

Трансплантация мягких тканей

Трансплантации надкостницы и надхрящницы в области дефектов в полную толщину суставного хряща нашли широкое применение на опытных животных и в клинических испытаниях на человеке. При этом были получены разнообразные результаты, и в некоторых случаях отмечалось образование гиалинового хряща, как ткани, восстанавливающей область дефекта. Было также показано, что нет существенной разницы между рубцовой тканью, которая формировалась из надхрящницы или надкостницы [49, 64]. Надкостница, однако, является доступной для трансплантации и, следовательно, нашла более широкое использование в экспериментах такого рода.

Надкостница обладает выраженным хондрогенным потенциалом, что проявляется в процессе развития скелета и при заживлении переломов костей [50]. Способность надкостницы образовывать хрящевую ткань объясняется наличием в камбиальном слое молодых клеток-предшественников хондроцитов. Как известно, снаружи кость покрыта надкостницей (периост), состоящей из наружного волокнистого слоя и внутреннего остеогенного (камбиального). Наружный слой образован волокнистой соединительной тканью. Внутренний – содержит молодые клетки различ-

ной степени дифференцировки – камбиальные стволовые клетки, преостеобласты, прехондробласты и остеобласты. Камбиальные клетки веретеновидной формы имеют небольшой объем цитоплазмы и умеренно развитый синтетический аппарат. Преостеобласты, прехондробласты – энергично пролиферирующие клетки овальной формы. *In vitro* исследования показали, что процесс дифференцировки хондроцитов начинается в зоне камбиального слоя периоста, находящейся в непосредственном соприкосновении с костной тканью, и прогрессирует в сторону волокнистого слоя. Однако при этом волокнистый слой надкостницы не трансформируется в хрящевую ткань. Рост новообразованного хряща направлен в сторону от волокнистого слоя, т.е. является аппозиционным, предполагая, что клетки-предшественники хондроцитов находятся в камбиальном слое непосредственно под волокнистой частью периоста [36]. Использование надкостницы для восстановления дефектов в полную толщину суставного хряща экспериментально включает в себя несколько этапов: в первую очередь, создание дефекта в полную толщину хряща и диаметром 4 мм и удаление 1-2 мм субхондральной кости. Затем периостальный трансплантат имплантируется в область дефекта, при этом камбиальный слой направлен кверху, т.е. в сторону гиалинового хряща противоположной суставной поверхности, трансплантат удерживается на месте фибриновым клеем [22]. Предполагается, что глубина сформированного дефекта имеет решающее значение для предотвращения артикуляции камбиального слоя с противоположной хрящевой поверхностью сустава до полного формирования матрикса гиалинового хряща [39]. Наиболее важным представляется тот факт, что при данной процедуре имеются два потенциальных источника молодых клеток: надкостница, содержащая молодые клетки, предшественники хондроцитов в камбиальном слое, и мезенхимные стволовые клетки, полученные из субхондральной кости, которая получает соответствующую обработку до трансплантации. Данный факт был доказан в экспериментах, проведенных на кроликах. Так, в случаях трансплантаций только надкостницы, лишь в 33% случаев наблюдалось полное восстановление тканей, у остальных 67% восстановление хрящевой ткани было результатом сочетания трансплантации периоста и поступления мезенхимных стволовых клеток из костного мозга субхондральной кости [64]. Клинически же было показано, что учет возраста пациентов и использование непрерывного пассивного движения в постоперационном периоде являются важными факторами для успешного исхода периостальной трансплантации [2, 42].

Остеохондральные трансплантации

Остеохондральные трансплантации аутогенной и аллогенной ткани широко используются для лечения преимущественно больших костно-

хрящевых дефектов. Аллогенный материал, полученный от трупных доноров был использован для лечения костно-хрящевых дефектов с различной степенью успеха [23]. Так, было экспериментально установлено, что использование свежей ткани оказалось более успешным, чем замороженной ткани с точки зрения гибели клеток и их механической устойчивости. Несмотря на то, что суставной хрящ является аваскулярной тканью и с иммунологической точки зрения находится в более привилегированном положении, чем другие ткани, иммунный ответ по-прежнему остается потенциальной проблемой [58]. Данный метод более широко используют с целью функционального и симптоматического лечения обширных дефектов суставного хряща.

Остеохондральные аутооттрансплантации (ОХАТ) применяются для лечения дефектов в полную толщину хряща, имеющих меньшую площадь. Остеохондральная аутооттрансплантация предполагает пересадку сформированного суставного хряща, способного поддерживать жизнедеятельность заключенных в его матриксе хондроцитов [7, 32, 40]. Методика ОХАТ претерпела многочисленные усовершенствования и технологически улучшена Hangody и Bobic [12, 32]. В настоящее время ОХАТ является распространенной операцией, применяемой в клинической практике в 70-80% случаев, при показаниях возможности замещения дефектов суставной поверхности гиалиновым хрящом [12, 33]. При операциях на коленном суставе «донорскими» зонами для забора аутооттрансплантатов являются «ненагруженные» антеролатеральные или антеромедиальные отделы мышечков бедра и его межмышечковая зона (Notch-зона). Места забора аутооттрансплантатов примерно через 12 недель заполняются фиброзно-хрящевой тканью, которая полностью закрывает костно-хрящевой дефект через год [55]. Пространство между аутооттрансплантатами и окружающим хрящом, как правило, заполнено фиброзно-хрящевой тканью с пониженным содержанием протеогликанов. Наряду с этим в некоторых случаях наблюдается полное восстановление дефекта гиалиновым хрящом. Эта процедура может осуществляться либо при открытом оперативном подходе, либо при артроскопии [19, 60]. В результате наблюдалось снижение интенсивности болевого синдрома и улучшение функции суставов и было показано, что наиболее успешный исход данной процедуры наблюдается при замещении дефектов в полную толщину суставного хряща, имеющих малую или среднюю площадь поражения [37]. Однако открытыми остаются некоторые вопросы, в частности не выяснено, как хондроциты из донорского участка, который в норме не является основным несущим тяжесть тела, после пересадки способны выдержать нагрузку полного веса организма. Недостаточно исследована жизнеспособность пересаженных хондроцитов, так в недавнем исследовании сравниваются два различных метода получения аутооттранспланта и, соответственно, жизнеспособность пересаженных хондроцитов в зависимости

от этого [27], так как гибель маргинальных хондроцитов по краям аутотрансплантата может привести к дегенерации ткани и отторжению трансплантата. Кроме того, неизбежно образование пустых промежутков, которые образуются между трансплантатом и исходным хрящом, что может привести к потере жизнеспособности маргинальных хондроцитов и явится помехой для латеральной интеграции трансплантата с исходной тканью, что с течением времени также может привести к дегенерации трансплантата. Также недостаточно изучено состояние донорского участка после забора костно-хрящевого трансплантата, необходимо тщательно исследовать жизнеспособность хондроцитов, находящихся по краям области забора, так как считается, что гибель клеток по краям образованной раны с течением времени может привести к дегенерации ткани. Кроме того, предполагается, что формирование рубцовой хрящевой ткани является нецелесообразным, так как образование фиброзного хряща и его последующая гипертрофия ускоряет анкилоз сустава [1, 41]. Забор ауто-трансплантатов осуществляется из так называемого «ненагруженного» участка сустава, что является довольно неточным определением, так как в исследованиях Simonian et al. было показано, что все области суставной поверхности в той или иной степени являются тяжестью несущими и удаление одного из участков сустава может в дальнейшем привести к гибели донорской области [55].

Трансплантация аутологичных хондроцитов

В 1984 г. была представлена новая методика аутологичной трансплантации хряща (АТХ) в эксперименте на кроликах, при которой культура аутохондроцитов вводилась в дефект хряща надколенника и покрывалась лоскутом периоста [52]. Лоскут периоста служил мембраной, покрывающей культуру хондроцитов, при этом обеспечивались не только механическое удержание хондроцитов в дефекте, но и возможность обмена питательных веществ и метаболизма между хондрокитами и синовиальной жидкостью. В 1987 г. в Швеции после получения разрешения Этического комитета Гетеборгского университета была выполнена первая АТХ у человека. В 1994 г. шведские ученые во главе с Brittberg опубликовали результаты первого опыта клинического применения АТХ при лечении посттравматических дефектов хряща коленного сустава [15]. В последующие годы имеется ряд работ той же группы исследователей, описывающих АТХ процедуру [16, 17]. Процедура включает в себя выделение хондроцитов в результате артроскопической биопсии из здоровых ненагруженных областей суставного хряща. Хондроциты из хрящевой ткани выделяются в результате ферментативного воздействия и содержатся в тканевой культуре, размножаясь в специальных питательных средах. Вторая процедура выполняется при артротомии. Дефект суставного хряща

очищается от дебриса, не достигая при этом субхондральной кости. Периостальный трансплантат, предварительно взятый из медиальной большеберцовой кости, фиксируется над областью дефекта, и затем культура аутологичных хондроцитов вводится под периостальный лоскут. Полученные результаты показали снижение болевого синдрома и восстановление функции сустава у многих пациентов. Проведенный гистологический анализ биопсии, взятой из данного участка, показал наличие гиалиновоподобной регенерационной ткани у 11 из 15 пациентов, страдающих поражением головки бедренной кости, в то время как у больных, страдающих поражением надколенника, только у 1 пациента из 7 было выявлено наличие гиалиновой ткани в области поражения. Согласно данным результатам, можно прийти к заключению, что данная процедура более эффективна для лечения бедренно-большеберцовых дефектов [16]. Однако на собаках было показано, что в обеих группах животных – контрольной и подвергнувшейся АТХ – существенного различия в образованной рубцовой ткани не наблюдалось, это позволяет заключить, что пересаженные дедифференцированные хондроциты не играют особой роли в процессе восстановления поврежденного хряща [14]. В более позднем исследовании Breinan, было изучено состояние репаративной ткани через 3 месяца после лечения. Результаты, полученные после длительного постоперационного периода, также не показали существенных преимуществ АТХ в экспериментальной группе собак по сравнению с контрольной. Трансплантации аутологичных хондроцитов, однако, применяются в клинической практике, и имеется ряд клинических исследований, демонстрирующих удовлетворительные результаты [13]. Так, согласно клиническим данным, полученным Minas при исследовании пациентов, получивших лечение хрящевых дефектов с применением техники АТХ, было выявлено улучшение функции сустава и снижение болевого синдрома через 12 месяцев у 72% пациентов, данные показатели сохранялись или даже улучшались к 24 месяцу [47]. Обследование тех же пациентов в более отдаленные сроки, проведенное Micheli et al., выявило общее улучшение состояние коленного сустава и положительный функциональный результат у 84% пациентов через 3 года после АТХ процедуры [46]. Наиболее продолжительные клинические исследования демонстрируют удовлетворительные результаты у 80% пациентов на период времени от 2 до 9 лет, при этом у 90% пациентов с дефектами бедренных мыщелков были зафиксированы довольно хорошие результаты [46]. Однако надо иметь в виду, что положительный исход АТХ процедуры может быть результатом образования регенерационной ткани из трех возможных источников клеток: пересаженных хондроцитов, клеток-предшественников хондроцитов из пересаженной надкостницы и, наконец, третьим источником регенерации являются мезенхимные стволовые клетки, полученные из субхондрального пространства костного мозга. Хотя АТХ может пред-

ложить долговременное облегчение симптомов остеоартрита и является признанной клинической техникой, еще недостаточно изучена степень участия имплантированных аутологичных хондроцитов в процессе восстановления общей структурной целостности хряща, так как результаты, полученные в предыдущих исследованиях, оказались спорными и не выявляют функциональной роли имплантированных хондроцитов. В опытах, проведенных на собаках и описанных Breinan et al., имплантированные хондроциты, не необходимы для надлежащего восстановления дефектов хряща [13], тогда как отсутствие имплантации аутологичных хондроцитов на кроличьей модели приводит к полной неудаче АТХ процедуры [16]. Dell'Accio провел исследование структурного вклада флуоресцентномеченых хондроцитов, имплантированных в область дефектов в полную толщину хряща латеральных бедренных мыщелков, на козьей модели. Согласно полученным результатам, было выявлено, что имплантированные клетки способны участвовать в образовании регенерационной ткани, и при этом отмечается экспрессия коллагена II типа в тех областях хряща, которые были заполнены флуоресцентномечеными имплантированными хондроцитами, что сохраняется до 14 недель постоперационного периода [24]. Являются ли данные противоречия результатом различий в особенностях строения суставного хряща различных видов животных, еще предстоит определить.

Биоматериалы-носители культуры клеток

Внедрение принципа «тканевой инженерии» привело к дальнейшей модификации биоматериалов, являющихся субстанцией-носителем культуры клеток. Таким образом, уже во время культивирования *in vitro* хондроциты вносятся в биоматериал и вместе с ним продолжают экспансию. Биоматериалы выполняют, с одной стороны, функцию носителя клеток или матрикса, а с другой – оказывают влияние на необходимую дифференцировку хондроцитов. Кроме того, использование такого матрикса с клетками существенным образом упрощает оперативное вмешательство, при котором клеточно-матриксный комплекс прямо вносится в дефект хряща без применения дополнительной фиксации периостом [45]. Для успешного исхода данной процедуры биоматериал должен быть биосовместимым, структурно и механически стабильным, должен поддерживать размножение соответствующей исходной клеточной культуры, обеспечивая успешную инфильтрацию матрикса клетками, а также содержать соответствующие биоактивные вещества, оказывающие воздействие на дифференцировку и созревание клеток. Tuli et al. в своем недавнем обзоре данной техники восстановления хрящевой ткани указывают на наличие двух основных типов биоматериалов-носителей: природных и синтети-

ческих матриц, обсуждая эффективность тех и других в процессах восстановления поврежденного суставного хряща [59].

В настоящее время в качестве биоматериалов применяются мембраны из гиалуроновой кислоты, коллагена и полимеров (PLA, PGA, PLLA, PLDLA) [11, 45], матрицы биологического и небиологического происхождения (агароза, алгинат, метилцеллюлоза, коллаген, гиалуронан, фибрин, углеродистое волокно, гидроксиапатит, пористая полимолочная кислота, дексон, викрил, PDS, политетрафлуорэтилен, полиэстер и другие синтетические полимеры) [20, 44]. Имеются сообщения об использовании синтетических материалов-каркасов, которые разлагаются микроорганизмами. Матрицы, обеспечивая начальную структуру, могут временно стабилизировать хондроциты в дефекте и направлять их пространственное распределение в пределах ткани, а также обеспечивать синтез коллагена и протеогликанов. При дальнейшей модификации этой техники начали использовать коллагеновый гель, в который энзиматически изолированные клетки без культивирования вносятся прямо в монослойную культуру. Находящиеся в виде суспензии хондроциты способны также проникать из матрикса-носителя в окружающие ткани реципиента с последующей полной интеграцией регенерата. Очень важно, что введение такого искусственного матрикса может осуществляться малоинвазивным способом путем артроскопии [26, 28]. Для этих целей весьма перспективна разработка в качестве носителя культивированных хрящевых клеток геля (полимер из полиэтиленоксида), который после введения в сустав способен полимеризоваться непосредственно в дефекте [34, 56]. Таким образом, трехмерные биоматериалы становятся все более популярными в связи с обеспечением устойчивой адгезии клеточной культуры и ее последующей механической стабильности. При этом одними из самых популярных природных матриц являются биоматериалы, полученные на основе коллагена и гиалуроновой кислоты, так как в норме они являются основой матрикса гиалинового суставного хряща. Предварительные клинические испытания с использованием матрикса-носителя на основе гиалуроновой кислоты (известный как Hyalograft CTM) в последнее время получили широкое признание при лечении дефектов суставного хряща [51]. При этом аутологичные хондроциты, которые были культивированы в средах на основе гиалуроновой кислоты, впоследствии имплантируются в области хрящевых дефектов, без необходимости периостального лоскута. Клинические результаты, полученные в ранние постоперационные сроки, довольно обнадеживающие, у 96.7% пациентов была обнаружена гиалиноподобная регенерационная ткань, биологически сопоставимая с нормальным суставным гиалиновым хрящом [51]. Однако исследования синтетических матриц, полученных на основе поли-гидрокси-субстратов эфира в виде полигликолевой (PGA) и поли (L) молочной (PLA) кислот, позволили выявить, что данные матрицы намного лучше способствуют продвиже-

нию протеогликанов и пролиферации, дифференцировке и созреванию хондроцитов, по сравнению с матриксами, полученными на основе коллагена [30]. Учитывая также тот факт, что природные матриксы, имплантированные в хрящевой дефект, могут активировать иммунную реакцию со стороны организма, применение синтетических полиэфирных матриц является более целесообразным для восстановления дефектов суставного хряща [54, 60]. Последующее обследование пациентов, подвергшихся данной процедуре с помощью магнитно-резонансной томографии, позволило выявить формирование гиалиновоподобной регенерационной ткани и частичное восстановление суставного хряща в области поверхностного дефекта через 12 месяцев после имплантации [6]. Среди нерешенных проблем – малая первичная стабильность трансплантата и «выживаемость» культуры, а также необходимость неоднократных инвазивных манипуляций в суставе.

Субпопуляции хондроцитов

Описанные выше процедуры восстановления суставного хряща основаны на имплантации выращенных *in vitro* аутологичных хондроцитов в область хрящевых дефектов [15]. В настоящее время многочисленные исследования посвящены проблеме улучшения функциональных свойств культивированного хряща и целесообразности использования конкретных популяций хондроцитов, которые, возможно, способны образовать регенерационную ткань с улучшенными характеристиками. Так, потенциальная роль хондроцитов, имеющих различные фенотипические свойства и находящихся в различных зонах суставного хряща при тканевой инженерии, была продемонстрирована Waldman et al. [62]. При этом были выделены хондроциты из полной толщины суставного хряща, а также из среднеглубокой зоны и глубокой зоны. Затем клетки были помещены в среду, содержащую фосфат кальция, и культивированы в течение 8 недель. Результаты данного исследования показали, что, хотя уровень синтеза коллагена был наиболее высоким в культуре хондроцитов, полученных из полной толщины хряща, однако в культуре клеток, выделенных из среднеглубокой зоны суставного хряща, отмечался наиболее высокий уровень накопления протеогликанов и превосходные механические свойства [62]. Данные результаты доказывают, что при использовании хондроцитов из среднеглубокой зоны суставного хряща для восстановления дефектов в полную толщину при АТХ, образованная регенерационная ткань будет иметь более высокие стандарты и, таким образом, более подходит для процедуры восстановления дефектов суставного хряща. Сравнительно недавно Dowthwaite et al. были выделены и охарактеризованы субпопуляции хондроцитов гиалинового хряща, которые находятся в поверхностной зоне молодого бычьего суставного хряща [25]. Предпола-

жительно, данные клетки являются молодыми клетками, предшественниками хондробластов (прехондробласты), обеспечивающими аппозиционный рост суставного хряща [25], которые были изолированы от поверхностной зоны хряща, используя их высокое сродство к фибронектину [35]. Их фенотипическая пластичность была проверена путем серии *in ovo* инъекций. При этом популяции прехондробластов, полученных из одной клеточной колонии, были привиты в различные виды соединительной ткани, где дифференцировали в линию клеток соответствующей ткани, тем самым подтверждая тот факт, что популяция данных клеток имеет свойства, сходные с характеристиками клеток-предшественников. Данные клетки также обладают высокой интенсивностью колониеобразования и способностью успешной пролиферации и дифференциации *in vitro* [25].

Таким образом, тщательное изучение прехондробластов в будущем может значительно расширить наши знания о процессах развития и роста хрящей, а также, может предложить новые решения в поиске успешной терапии для лечения поражений суставного хряща.

Мезенхимные стволовые клетки

Мезенхимные стволовые клетки (МСК) – мультипотентные клетки, обладающие способностью к самообновлению, обеспечивая регенерацию соответствующих тканей после их повреждения или травмы. Кроме того, МСК обладают способностью дифференцировать в различные другие клетки соединительной ткани, такие как клетки сухожилий, хрящевые, костные, жировые и мышечные [10, 21, 48], и характеризуются экспрессией определенных клеточноспецифичных поверхностных маркеров [43]. В настоящее время многочисленные исследования фокусируются на изучении методов изолирования МСК и их успешной экспансии *in vitro*. В целях улучшения функциональной интеграции культивированной *in vitro* регенерационной ткани с исходной используются матриксы-носители или же МСК в сочетании с конкретными активными биомолекулами, такими как факторы роста, с целью облегчения дифференцировки и созревания трансплантированных клеток. Так как клинические испытания на людях еще не проводились, на животных моделях при лечении хрящевых дефектов посредством трансплантации МСК были использованы клетки, полученные из тканевых источников, являющихся альтернативой хрящевой ткани, и главным образом МСК костного мозга, хотя другие источники, такие как синовиальные оболочки, также были рассмотрены. Нынешний обзор пластичности МСК, полученных из костного мозга, позволяет подчеркнуть обширный потенциал стволовых клеток для дифференцировки в различные клеточные линии [31]. Давно известно, что МСК, полученные из костного мозга, обладают широким потенциалом дифференциации при их имплантации *in vivo*, необходимым для успешного

восстановления костно-хрящевых дефектов [4, 5, 29], в результате чего довольно интересным представляется использование данных клеток в тканевой инженерии суставного хряща [61]. Однако до недавнего времени оптимальные условия для *in vitro* культивирования МСК, полученных из постнатального костного мозга с целью успешного хондрогенеза, не были установлены. Так, Johnstone et al. описывают *in vitro* хондрогенез МСК, полученных из костного мозга кролика, с использованием трехмерной культуральной системы с добавлением TGF- β 1 [38]. Исследования человеческих МСК, полученных из костного мозга, позволили выявить их способность дифференцировать в клетки, имеющие фенотип хрящевых, в соответствующих условиях среды [53, 63].

К настоящему времени, остается в значительной степени не изучена фенотипическая пластичность хондроцитов из человеческого суставного хряща. Tallheden et al. сообщают, что культура хондроцитов человеческого суставного хряща обладает характеристиками, аналогичными таковым культуре клеток-предшественников, при этом, однако, данные авторы были не в состоянии идентифицировать специфическую популяцию клеток-предшественников [57]. Позднее Alsalameh et al. выявили популяцию потенциальных недифференцированных клеток в нормальном и пораженном остеоартритом человеческом суставном хряще, основываясь на специфической экспрессии CD маркеров данными клетками [3]. Хотя дальнейшие исследования, направленные на выявление возможности клонирования и экспансии данной популяции клеток-предшественников *in vitro* довольно скудны, полученные результаты открывают широкие перспективы при лечении поврежденного суставного хряща с помощью собственных аутологичных клеток-предшественников. При этом более высокое содержание клеток-предшественников в пораженном остеоартритом хряще по сравнению с нормальным суставным хрящом представляет значительный интерес. Предположительно, это может быть связано с повышенной миграцией молодых, недифференцированных клеток из окружающей синовиальной ткани.

Таким образом, основной целью лечебных процедур, направленных на устранение дефектов суставного хряща, является облегчение симптоматики, подавление болевого синдрома и улучшение функции суставов. Большинство из вышеописанных исследований, посвященных проблеме биологического восстановления хрящевой ткани, довольно успешны в достижении данной цели, однако, многие описанные процедуры не в состоянии предотвратить будущую дегенерацию имплантированной регенерационной ткани и окружающих ее участков гиалинового хряща. Дегенерация имплантированной ткани обусловлена, в частности, самой природой данной ткани. Имплантированная регенерационная ткань часто обладает структурой волокнистой хрящевой ткани без зональной организации хондроцитов суставного хряща. В случае же образования гиалинового

хряща он преимущественно является незрелым и не имеет истинной суставной поверхности. Функционально, имплантированная регенерационная ткань не соответствует механическим требованиям суставного хряща, и при отсутствии успешной боковой интеграции с исходным гиалиновым хрящом процесс дегенерации практически неизбежен.

Будущие исследования, возможно, придется сосредоточить на поиске успешного метода *in vitro* экспансии аутологичных клеток-предшественников, способных продуцировать механически функциональный гиалиновый хрящ, который восстановит дефекты суставного хряща при имплантации. Также необходимо сосредоточить внимание на проблеме успешной боковой интеграции между имплантированной тканью и оставшимся хрящом и предотвращении процесса дегенерации.

Данная работа осуществлена благодаря финансированию Государственного комитета по науке РА.

Поступила 23.09.13

Օստեոարթրիտի ժամանակ հոդային հիալինային աճառի վերականգնման ժամանակակից մեթոդները

**Ա.Լ. Թորգոմյան, Հ.Կ. Ղամբարյան, Հ.Ա. Հասրաթյան,
Դ.Ն. Խուդավերդյան**

Օստեոարթրիտը արթրիտների ամենատարածված տեսակն է և հանդիսանում է հաշմանդամության զարգացման հիմնական պատճառ: Ինչպես հայտնի է, հոդային աճառը օժտված է թույլ արտահայտված ռեգեներացիայի հատկությամբ: Այն չի պարունակում արյունատար անոթներ և ունի մեկ տեսակի բջիջներ՝ խոնդրոբլաստ-խոնդրոցիտներ, որոնց միջոցով ձևավորվում են նրա երեք գոտիները՝ մակերեսային, միջին և խորը: Ներկայումս կատարվում են բազմաթիվ փորձեր՝ ուղղված աճառներում ընթացող բորբոքային պրոցեսների վերացմանը և վնասված աճառի վերականգնման թերապևտիկ մոտեցումների ուսումնասիրությանը: Տվյալ աշխատանքում մենք քննարկել և փորձել ենք տեսակավորել ներկայումս կիրառվող հոդային հիալինային աճառի վերականգնմանն ուղղված ժամանակակից մոտեցումները:

Current methods of articular hyaline cartilage restoration in osteoarthritis

A.L. Torgomyan, H.K. Ghambaryan, H.A. Hasratyan, D.N. Khudaverdyan

Osteoarthritis is the most common form of arthritis and the leading cause of chronic disability. As it is known, articular cartilage possesses mild regenerative capacity. As an avascular tissue, cartilage contains a single cell type, the chondrocyte-chondroblasts, that form three zones: superficial, medium and deep. So far, numerous attempts have been made for the development of therapeutic approaches aimed at elimination of inflammation and restoration of the damaged cartilage. In this review, we are discussing and trying to sort out various procedures currently used to activate articular cartilage regeneration.

References

1. Ahmad C.S., Guiney W.B., Drinkwater C.J. Evaluation of donor site intrinsic healing response in autologous osteochondral grafting of the knee. *Arthroscopy*, 2002, 18: 95-98.
2. Alfredson H., Lorentzon R. Superior results with continuous passive motion compared to active motion after periosteal transplantation. A retrospective study of human patella cartilage defect treatment. *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.*, 1999, 7: 232-238.
3. Alsalameh S., Amin R., Gemba T., Lotz M. Identification of mesenchymal progenitor cells in normal and osteoarthritic human articular cartilage. *Arthritis Rheum.*, 2004, 50: 1522-1532.
4. Ashhurst D.E., Ashton B.A., Owen M.E. The collagens and glycosaminoglycans of the extracellular matrices secreted by bone marrow stromal cells cultured in vivo in diffusion chambers. *J. Orthop. Res.*, 1990, 8: 741-749.
5. Ashton B.A., Allen T.D., Howlett C.R., Eaglesom C.C., Hattori A., Owen M. Formation of bone and cartilage by marrow stromal cells in diffusion chambers in vivo. *Clin. Orthop.*, 1980, 151: 294-307.
6. Bachmann G., Basad E., Lommel D., Steinmeyer J. MRI in the follow-up of matrix-supported autologous chondrocyte transplantation (MACI) and microfracture. *Radiologe*, 2004, 44: 773-782.
7. Barber F.A., Chow J.C.Y. *Arthroscopy*, 2001, Vol. 17. p. 832-835.
8. Barry F.P. (a) Biology and clinical applications of mesenchymal stem cells. *Birth Defects Res. C. Embryo Today*, 2003, 69: 250-256.
9. Barry F.P. (b) Mesenchymal stem cell therapy in joint disease. *Novartis Found Symp.*, 2003 249: 86-96; discussion 96-102, 170-104, 239-141.
10. Barry F.P., Boynton R.E., Haynesworth S., Murphy J.M., Zaia J. The monoclonal antibody SH-2, raised against human mesenchymal stem cells, recognizes an epitope on endoglin (CD105). *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1999, 265: 134-139.
11. Behrens P., Ehlers E.M., Kochermann K.U., Rohwedel J., Russlies M., Plotz W. New therapy procedure for localized cartilage defects. Encouraging results with autologous chondrocyte implantation. *MMW Fortschr. Med.*, 1999, 141: 49-51.
12. Bobic V. *Orthopäde*, 1999, Bd. 28, S. 19-25.
13. Breinan H.A., Minas T., Hsu H.P., Nehrer S., Shortkroff S., Spector M. Autologous chondrocyte implantation in a canine model: change in composition of reparative tissue with time. *J. Orthop. Res.*, 2001, 19: 482-492.
14. Breinan H.A., Minas T., Hsu H.P., Nehrer S., Sledge C.B., Spector M. Effect of cultured autologous chondrocytes on repair of chondral defects in a canine model. *J. Bone Joint Surg. Am.*, 1997, 79: 1439-1451.
15. Brittberg M., Lindahl A., Nilsson A., Ohlsson C., Isaksson O., Peterson L. Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation. *N. Engl. J.*

- Med., 1994, 331: 889-895.
16. *Brittberg M., Nilsson A., Lindahl A., Ohlsson C., Peterson L.* Rabbit articular cartilage defects treated with autologous cultured chondrocytes. *Clin. Orthop.*, 1996, 326: 270-283.
 17. *Brittberg M., Lindahl A., Nilsson A. et al.* *New Engl. J. Med.*, 1994, Vol. 331, p. 889-895.
 18. *Buckwalter J. A., Mankin H. J. J.* *Bone Joint Surg.*, 2001, Vol. 79A, p. 612-632.
 19. *Buckwalter J. A., Rosenberg L. C., Hunziker E. B.* Articular cartilage: composition, structure, response to injury, and methods of facilitation repair. eds J. W. Ewing. New York: Raven Press, 1990, p. 19-56.
 20. *Buckwalter J.A., Lohmander S. J.* *Bone Joint Surg. (Amer.)*, 1994, Vol. 76, p.1405-1418.
 21. *Caplan A.I.* Mesenchymal stem cells. *J. Orthop. Res.*, 1991, 9: 641-650.
 22. *Carranza-Bencano A., Perez-Tinao M., Ballesteros- Vazquez P., Armas-Padron J.R., Hevia-Alonso A., Martos Crespo F.* Comparative study of the reconstruction of articular cartilage defects with free costal perichondrial grafts and free tibial periosteal grafts: an experimental study on rabbits. *Calcif. Tissue Int.*, 1999, 65: 402-407.
 23. *Czitrom A.A., Langer F., McKee N., Gross A.E.* Bone and cartilage allotransplantation. A review of 14 years of research and clinical studies. *Clin. Orthop.*, 1986, 208: 141-145.
 24. *Dell'Accio F., Vanlauwe J., Bellemans J., Neys J., De Bari C., Luyten F.P.* Expanded phenotypically stable chondrocytes persist in the repair tissue and contribute to cartilage matrix formation and structural integration in a goat model of autologous chondrocyte implantation. *J. Orthop. Res.*, 2003, 21: 123-131.
 25. *Dowthwaite G.P., Bishop J.C., Redman S.N., Khan I.M., Rooney P., Evans D.J., Houghton L., Bayram Z., Boyer S., Thomson B., Wolfe M.S., Archer C.W.* The surface of articular cartilage contains a progenitor cell population. *J. Cell. Sci.*, 2004, 117: 889-897.
 26. *Erggelet C., Sittinger M., Lahm A.* *Arthroscopy*, 2003, Vol. 19, p. 108-110.
 27. *Evans P.J., Miniaci A., Hurtig M.B.* Manual punch versus power harvesting of osteochondral grafts. *Arthroscopy*, 2004, 20: 306-310.
 28. *Freed L.E., Grande D.A., Lingbin Z. et al.* *J. Biomed. Mater. Res.*, 1994, Vol. 28, p. 891-899.
 29. *Goshima J., Goldberg V.M., Caplan A.I.* Osteogenic potential of culture-expanded rat marrow cells as assayed in vivo with porous calcium phosphate ceramic. *Biomaterials*, 1991, 12: 253-258.
 30. *Grande D.A., Halberstadt C., Naughton G., Schwartz R., Manji R.* Evaluation of matrix scaffolds for tissue engineering of articular cartilage grafts. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1997, 34: 211-220.
 31. *Grove J.E., Bruscia E., Krause D.S.* Plasticity of bone marrow-derived stem cells. *Stem Cells*, 2004 22: 487-500.
 32. *Hangody L., Kish G., Karpati Z., Szerb I., Udvarhelyi I.* Arthroscopic autogenous osteochondral mosaicplasty for the treatment of femoral condylar articular defects. A preliminary report. *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.*, 1997, 5: 262-267.
 33. *Hangody L., Duska Z., Karpati Z.* *Techniques in Knee Surgery*, 2002, Vol. 1, N 1, p. 13-22.
 34. *Hanlon J., Tubo R., Estridge T. et al.* *Trans. Orthop. Res.*, 1997, Vol. 22, p. 539-544.
 35. *Hynes R.O.* Integrins: versatility, modulation, and signaling in cell adhesion. *Cell*, 1992, 69: 11-25.
 36. *Ito Y., Fitzsimmons J.S., Sanyal A., Mello M.A., Mukherjee N., O'Driscoll S.W.* Localization of chondrocyte precursors in periosteum. *Osteoarthritis Cartilage*, 2001, 9: 215-223.
 37. *Jakob R.P., Franz T., Gautier E., Mainil-Varlet P.* Autologous osteochondral grafting in the knee: indication, results, and reflections. *Clin. Orthop.*, 2002, 401: 170-184.
 38. *Johnstone B., Hering T.M., Caplan A.I., Goldberg V.M., Yoo J.U.* In vitro chondrogenesis of bone marrowderived mesenchymal progenitor cells. *Exp. Cell. Res.*, 1998, 238: 265-272.
 39. *Korkala O.L., Kuokkanen H.O.* Autoarthroplasty of knee cartilage defects by osteoperiosteal grafts. *Arch. Orthop. Trauma Surg.*, 1995, 114: 253-256.
 40. *Lane J.G., Tontz W.L., Ball S.T. et al.* *Arthroscopy*, 2001, Vol. 17, p. 856-863.
 41. *LaPrade R.F., Botker J.C.* Donor-site morbidity after osteochondral autograft transfer procedures. *Arthroscopy*, 2004, 20: e69-73.
 42. *Lorentzon R., Alfredson H., Hildingsson C.* Treatment of deep cartilage defects of the patella with periosteal transplantation. *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.*, 1998, 6:

202-208.

43. *Majumdar M.K., Thiede M.A., Haynesworth S.E., Bruder S.P., Gerson S.L.* Human marrow-derived mesenchymal stem cells (MSCs) express hematopoietic cytokines and support long-term hematopoiesis when differentiated toward stromal and osteogenic lineages. *J. Hematother. Stem Cell. Res.*, 2000, 9: 841-848.
44. *Marcacci M., Zaffagnini S., Kon E. et al.* Knee Surg. Sports Traumatol. Arthroscopy, 2002 Vol. 10, p. 154-159.
45. *Marlovits S., Kutscha-Lissberg F., Aldrian S. et al.* Radiologe, 2004, Vol. 44, p. 763-772.
46. *Micheli L.J., Browne J.E., Erggelet C., Fu F., Mandelbaum B., Moseley J.B., Zurakowski D.* Autologous chondrocyte implantation of the knee: 37 multicenter experience and minimum 3-year follow-up. *Clin. J. Sport. Med.*, 2001, 11: 223-228.
47. *Minas T.* Chondrocyte implantation in the repair of chondral lesions of the knee: economics and quality of life. *Am. J. Orthop.*, 1998, 27: 739-744.
48. *Minguell J.J., Erices A., Conget P.* Mesenchymal stem cells. *Exp. Biol. Med. (Maywood)*, 2001, 226: 507-520.
49. *Namba R.S., Meuli M., Sullivan K.M., Le A.X., Adzick N.S.* Spontaneous repair of superficial defects in articular cartilage in a fetal lamb model. *J. Bone Joint Surg. Am.*, 1998, 80: 4-10.
50. *O'Driscoll S.W.* Articular cartilage regeneration using periosteum. *Clin. Orthop.*, 1999, 367: S186-203.
51. *Pavesio A., Abatangelo G., Borriero A., Brocchetta D., Hollander A.P., Kon E., Torasso F., Zanasi S., Marcacci M.* Hyaluronan-based scaffolds (Hyalograft C) in the treatment of knee cartilage defects: preliminary clinical findings. *Novartis Found Symp.*, 2003, 249: 203-217; discussion 229-233, 234-208, 239-241.
52. *Peterson L., Menche D., Grande D. et al.* Chondrocyte transplantation: an experimental model in the rabbit [abstr.] *Transactions from the 30th Annual Orthopaedic Research Society*, 1984, p. 218.
53. *Pittenger M.F., Mackay A.M., Beck S.C., Jaiswal R.K., Douglas R., Mosca J.D., Moorman M.A., Simonetti D.W., Craig S., Marshak D.R.* Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*, 1999, 284: 143-147.
54. *Ronga M., Grassi F.A., Bulgheroni P.* Arthroscopic autologous chondrocyte implantation for the treatment of a chondral defect in the tibial plateau of the knee. *Arthroscopy*, 2004, 20: 79-84.
55. *Simonian P.T., Sussmann P.S., Wickiewicz T.L., Paletta G.A., Warren R.F.* Contact pressures at osteochondral donor sites in the knee. *Am. J. Sports. Med.*, 1998, 26: 491-494.
56. *Sims C.D., Butler P.E.M., Casanova R. et al.* *Plast. Reconstr. Surg.*, 1996, Vol. 98, p. 843-850.
57. *Tallheden T., Dennis J.E., Lennon D.P., Sjogren-Jansson E., Caplan A.I., Lindahl A.* Phenotypic plasticity of human articular chondrocytes. *J. Bone Joint Surg. Am.*, 2003, 85-A: Suppl. 2, 93-100.
58. *Tomford W.W., Springfield D.S., Mankin H.J.* Fresh and frozen articular cartilage allografts. *Orthopedics*, 1992, 15: 1183-1188.
59. *Tuli R., Li W.J., Tuan R.S.* Current state of cartilage tissue engineering. *Arthritis Res. Ther.*, 2003, 5: 235-238.
60. *Vibe-Hansen R., Aesculai S.* Methods, instruments and kit for autologous chondrocyte transplantation. 1998, Patent WO 98/08469.
61. *Wakitani S., Goto T., Pineda S.J., Young R.G., Mansour J.M., Caplan A.I., Goldberg V.M.* Mesenchymal cell based repair of large, full-thickness defects of articular cartilage. *J. Bone Joint Surg. Am.*, 1994, 76: 579-592.
62. *Waldman S.D., Grynblas M.D., Pilliar R.M., Kandel R.A.* The use of specific chondrocyte populations to modulate the properties of tissue-engineered cartilage. *J. Orthop. Res.*, 2003, 21: 132-138.
63. *Yoo J.U., Barthel T.S., Nishimura K., Solchaga L., Caplan A.I., Goldberg V.M., Johnstone B.* The chondrogenic potential of human bone-marrow-derived mesenchymal progenitor cells. *J. Bone Joint Surg. Am.*, 1998 80: 1745-1757.
64. *Zarnett R., Salter R.B.* Periosteal neochondrogenesis for biologically resurfacing joints: its cellular origin. *Can. J. Surg.*, 1989, 32: 171-174.