

Новые методы хирургического лечения дефектов гиалинового хряща коленного сустава у больных с гонартрозом

*А. А. Стадников, Г. М. Кавалерский, С. В. Архипов, В. П. Павлов¹, С. А. Макаров¹,
М. А. Макаров¹, А. А. Роскидайло
ММА им. И. М. Сеченова
I-НИИР РАМН, Москва*

Лечение дефектов гиалинового хряща у больных с гонартрозом является сложной ортопедической проблемой. Использование мезенхимальных стволовых клеток (МСК), обладающих способностью дифференцироваться в клетки с хондрогенной направленностью, и генно-инженерных технологий перспективно для восстановления суставного хряща. МСК могут быть выделены из различных тканей и размножены без потери способности к хондрогенной дифференцировке [8,17,27]. В данной статье рассматриваются новейшие технологии лечения дефектов суставного хряща коленного сустава при гонартрозе, основанные на применении МСК и прицельной генной терапии.

В результате травм или заболеваний суставной хрящ повреждается часто, но обладает очень ограниченной способностью к регенерации. В этой зоне отсутствует васкуляризация и, как следствие, клетки крови и костного мозга, а также хондроциты не могут мигрировать в место дефекта. Поэтому в случае изолированного повреждения хряща регенерация выражена очень слабо.

При остеохондральных дефектах происходит повреждение суставного хряща и подлежащей субхондральной кости, вызывающее разрыв кровеносных сосудов и создающее сообщение дефекта с костным мозгом. В этом случае запускается процесс регенерации, обычно начинающийся с образования гематомы, которая формируется преимущественно из крови поврежденных кровеносных сосудов или костного мозга. Фибриновая сеть гематомы задерживает тромбоциты, выделяющие, в свою очередь, различные биоактивные факторы, стимулирующие сосудистую инвазию и миграцию недифференцированных мезенхимальных клеток в гематому, пос-

тепенно преобразующуюся в фибриновый сгусток. В течение нескольких дней после травмы мезенхимальные клетки размножаются и могут дифференцироваться в хондроциты, синтезирующие коллагеновый матрикс. Получающийся регенерат, однако, плохо организован и содержит значительное количество коллагена первого типа.

Поздняя стадия диагностирования гонартроза, трудности изучения этиопатогенеза этого заболевания у людей, неадекватность его моделей на животных способствуют плохому пониманию механизмов развития этой патологии. Однако известно, что хондроциты суставного хряща при остеоартрозе (ОА) синтезируют и выделяют протеолитические ферменты, разрушающие хрящевой матрикс. Цитокины, такие как фактор некроза опухолей (ФНО), также вовлеченные в процесс дезинтеграции хряща, наряду с биомеханическими причинами, определяют патофизиологию заболевания. Несмотря на значительные усилия, предпринятые для разработки ингибиторов этих молекул, проблема предотвращения дегенерации и восстановления хряща при ОА остается [1,7,20].

Дефекты гиалинового хряща могут как стимулировать развитие гонартроза, так и быть его проявлением [9]. Различают следующие методы лечения дефектов покровного хряща: лаваж сустава и дебридмент суставной поверхности, абразия хряща, туннелизация и микрофрактурирование субхондральной кости, трансплантация остеохондральных фрагментов [4,5,10,12,16,26]. Как считает L. L. Johnson, абразивная артроскопическая артропластика ускоряет регенерацию хряща в месте дефекта, что подтверждается данными повторной артроскопии, биопсии и сравнительным анализом рентгенограмм [13]. По данным сравнительных исследований, абразивная хондропластика и промывание сустава у больных с хондромалацией 3-4 степени на фоне гонартроза дают сходные результаты [2]. Существуют современные исследования, указы-

вающие на эффективность такого общепринятого метода лечения дефектов суставного хряща у больных с гонартрозом, как микрофратурирование субхондральной кости. Так, в работе D. K. Vae у пациентов, которым производилась эта операция, через 1 год отмечалось улучшение функции коленного сустава, расширение суставной щели и образование коллагена II типа в регенерате. Однако достоверной информации о сохранности хрящевого регенерата после микрофратурирования субхондральной кости в долгосрочном периоде пока нет [2]. Таким образом, существует необходимость в разработке новых подходов к лечению дефектов суставного хряща при гонартрозе.

Несмотря на многообещающие характеристики МСК и их потенциальную возможность вызвать обратное развитие некоторых проявлений ОА, дефекты покровного хряща, возникающие на фоне данного заболевания, отличаются от тех, которые появляются при травме и рассекающем остеохондрите, и вопрос использования МСК в данном случае остается дискуссионным. Острое повреждение суставного хряща и рассекающий остеохондрит зачастую возникают в здоровом суставе, и дефект хряща требует локального лечения. В случае ОА обычно необходимо воздействовать на всю суставную поверхность. Восстановление хряща может привести к ослаблению и задержке прогрессирования симптоматики, но без эффективного лечения основного заболевания любое улучшение носит кратковременный характер.

Некоторые исследователи полагают, что прогрессирование дегенеративных процессов в суставе может быть связано с уменьшением количества и функциональном изменении популяций МСК. Существуют публикации, свидетельствующие о том, что пролиферативные, хондрогенные и адипогенные возможности МСК, полученных пациентов с ОА, слабее, чем у здоровых людей. Возможно, снижение указанных свойств МСК связано с повышением уровня провоспалительных цитокинов и (или) с действием противовоспалительных медикаментов. Влияет ли на склонность к развитию ОА уменьшение активности МСК, остается до конца неясным [3].

Другой фактор, связанный с этиопатогенезом ОА, это возраст. В некоторых исследованиях описывается сокращение числа активных МСК, выделенных из костного мозга [24,28], хотя другие исследователи не смогли выявить связи между возрастом и числом МСК [19,23]. В этом контексте надо иметь в виду, что достаточное количество МСК с адекватным хондрогенным потенциалом может быть выделено у пациентов с ОА, независимо от их возраста или этиологии заболевания [14,29].

Ключевым моментом в лечении хондромалиции гиалинового хряща 3-4 степени у больных с гонартрозом с использованием МСК является доставка стволовых клеток в зону дефекта. Внутрисуставная

инъекция может быть эффективной на ранних стадиях заболевания, когда зона дефекта ограничена хрящевым слоем, в то время как различного рода носители МСК могут быть полезными в случае обнажения субхондральной кости [23].

Внутрисуставная инъекция МСК технически является наиболее простым способом введения их в сустав. После инъекции МСК распределяются по суставу и взаимодействуют с доступными восприимчивыми клетками и поверхностями. В работе J. M. Murphy собственные МСК в разбавленном растворе гиалуроната были инъецированы в коленный сустав козлов с ОА, индуцированным тотальной менискэктомией и резекцией передней крестообразной связки. После инъекций МСК дегенерация покровного хряща, остеофиты и субхондральный склероз уменьшались [23].

В исследовании K. B. Lee свежий частичный дефект покровного хряща у морских свинок также лечился путем внутрисуставной инъекции взвесью МСК в растворе гиалуроновой кислоты. В пролеченной группе животных наблюдалась лучшая регенерация хряща по сравнению с контрольной группой, где вводилась лишь гиалуроновая кислота. Регенерат у животных контрольной группы был худшего качества, что выражалось в его быстром разрушении в пределах 12 недель [18]. Точный механизм приживления имплантированных или мобилизованных МСК точно не известен, но ясно, что эти клетки секретируют ряд биоактивных молекул, проявляющих иммунорегуляторную и регенераторную активность [15].

Несущие конструкции для имплантации МСК представлены биодеградируемыми мембранами и коллагеновыми гидрогелями. К преимуществам первых можно отнести локальность воздействия, что является важным при лечении дефектов покровного хряща; вторых — более гомогенное распределение внутри сустава МСК и продуцируемого ими межклеточного вещества [23]. Для создания мембран используют синтетические и натуральные материалы. В искусственно созданных мембранах применяются полимеры, производные гликолевой, молочной кислот и других органических веществ. Нативные биоматериалы, такие как коллаген, обеспечивают более близкую к естественной микросреде для МСК, чем искусственные.

В исследовании, проведенном в городской больнице № 1 им. Семашко г.Ростова-на-Дону, Г. Ш. Голубев с соавторами на материале 7 пациентов с дефектами гиалинового хряща на фоне гонартроза пришли к выводам, что пластика двуслойной мембраной Chondro-Gide обеспечивает достоверное улучшение функции оперированного сустава у таких больных. Оценка среднесрочных (от 6 до 32 мес) результатов производилась методом телефонного анкетирования по критериям KOOS. Частота неудовлетворительных среднесрочных результатов в анализируемой группе не превышала 7,3% ($p < 0,05$).

Первые результаты использования трансплантации МСК на коллагеновом гидрогеле для лечения изолированных полнослойных хрящевых дефектов были описаны S. Wakitani с соавт. [33]. Двум пациентам с дефектом надколенника был имплантирован и покрыт лоскутом из надкостницы коллагеновый гель, содержащий МСК. По истечении года у них было обнаружено заполнение дефекта фиброзной хрящевой тканью. У обоих пациентов было отмечено значительное улучшение состояния при клиническом осмотре через 1, 4, и 5 лет. S. Wakitani впоследствии использовал данную методику для лечения пациента с полнослойным дефектом хряща на нагружаемой области мышелка бедра. Симптомы существенно уменьшились после 1 года с момента операции. Как показало гистологическое исследование, дефект был заполнен гиалино-подобной тканью, позитивно окрашивающейся на сафранин О, что указывало на то, что трансплантированные МСК дифференцировались в хондроциты.

Тем не менее нарушение гомеостаза при ОА создает по сравнению с нормой совершенно другую среду, влияющую на формирование регенерата и дифференцировку тканей. Потенциал трансплантации МСК при ОА остается до конца неясным [33]. МСК восприимчивы к трансдукции с различными вирусами, поэтому определенные надежды в лечении ОА связываются с использованием МСК в качестве векторов для доставки заданного генетического материала [33]. В частности, применение МСК может развить технологии доставки генов, продуцирующих протеины и вызывающих обратное развитие ОА. Генно-модифицированные МСК также можно доставить в патологический очаг с помощью мембраны и в суспензии. В настоящее

время появляется информация об эффективности трансгенных МСК в лечении ОА. Например, введение гена, продуцирующего инсулино-подобный фактор роста с суспензией таких клеток в сустав приводило к частичному обратному развитию дегенерации суставного хряща при ОА [11, 25].

Описанный выше метод лечения ОА путем введения генно-модифицированных МСК пригоден для предотвращения прогрессирования заболевания, но оказывается непригодным для восстановления поврежденного хряща [23]. В соответствии с альтернативной стратегией в качестве носителя МСК используется мембрана. В настоящее время имеются данные о том, что экспрессия определенных генов *in vivo* может приводить к синтезированию здорового суставного хряща на фоне ОА [31].

Гонартроз, являющийся одним из наиболее распространенных заболеваний суставов, характеризуется дегенерацией суставного хряща и осложняет лечение дефектов гиалинового хряща коленного сустава. В настоящее время для лечения дефектов покровного хряща коленного сустава с гонартозом активно исследуется введение в сустав МСК. Они могут быть использованы как в качестве продуцентов биологически активных факторов, инициирующих эндогенную регенераторные процессы в больном суставе, так и в роли клеток с хондрогенной активностью. Их деятельность может быть усилена прицельной генной терапией. Доставка МСК в сустав может быть достигнута прямой внутрисуставной инъекцией или имплантацией на носителях. Есть надежда на то, что через определенное время названные технологии позволят с успехом лечить хондромалицию 3-4 степени при гонартрозе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Aigner T, Söder S, Gebhard PM et al. Mechanisms of disease: role of chondrocytes in the pathogenesis of osteoarthritis—structure, chaos and senescence. *Nat. Clin. Pract. Rheumatol.*, 2007, 3, 391–9
2. Bae D K, Yoon K H, Song S J et al. Cartilage healing after microfracture in osteoarthritic knees. *Arthroscopy*, 2006, 22, 4, 267–74
3. Barry F P Biology and clinical applications of mesenchymal stem cells. *Birth Defects Res. C. Embryo Today*, 2003, 69, 250–6
4. Bartlett W, Skinner J A, Gooding C R et al. Autologous chondrocyte implantation versus matrix-induced autologous chondrocyte implantation for osteochondral defects of the knee: a prospective, randomised study. *J Bone Joint Surg. Br.*, 2007, 87: 640–5
5. Bentley G, Biant L C, Carrington R W et al. A prospective, randomised comparison of autologous chondrocyte implantation versus mosaicplasty for osteochondral defects in the knee. *J. Bone Joint. Surg. Br.*, 2003, 85, 223–30
6. Bert J M, Gasser S I. Approach to the osteoarthritic knee in the aging athlete: debridement to osteotomy. *Arthroscopy*, 2002, 18, 107–10
7. Buckwalter J. A., Martin J A, Brown T D. Perspectives on chondrocyte mechanobiology and osteoarthritis. *Biorheology*, 2006, 43, 603–9
8. Chen F H, Rousche K T, Tuan R S. Technology insight: adult stem cells in cartilage regeneration and tissue engineering. *Nat. Clin. Pract. Rheumatol.*, 2006, 2, 373–82
9. Elders M J. The increasing impact of arthritis on public health. *J. Rheumatol. Suppl.*, 2000, 60, 6–8
10. Hangody L, Fules P. Autologous osteochondral mosaicplasty for the treatment of full-thickness defects of weight-bearing joints: ten years of experimental and clinical experience. *J. Bone Joint Surg. Am.*, 2003, 85A, 2, 25–32
11. Haupt J, Frisbie D D, McIlwraith C W et al. Dual transduction of insulin-like growth factor-I and interleukin-1 receptor antagonist protein controls cartilage degradation in an osteoarthritic culture model. *J. Orthop. Res.*, 2005, 23, 118–26

12. Henderson I, Francisco R, Oakes B et al. Autologous chondrocyte implantation for treatment of focal chondral defects of the knee—a clinical, arthroscopic, MRI and histologic evaluation at 2 years. *Knee*, 2005, 12, 209–16
13. Johnson L L. Arthroscopic abrasion arthroplasty historical and pathologic perspective: Present status. *Arthroscopy*, 1986, 2, 54–69
14. Kafienah W, Mistry S, Dickinson S C et al. Three-dimensional cartilage tissue engineering using adult stem cells from osteoarthritis patients. *Arthritis Rheum.*, 2007, 56, 177–87
15. Kan I, Melamed E, Offen D. Autotransplantation of bone marrow-derived stem cells as a therapy for neurodegenerative diseases. *Handb. Exp. Pharmacol.*, 2007, 180, 219–42
16. Knutsen G. Autologous chondrocyte implantation compared with microfracture in the knee. A randomized trial. *J. Bone Joint Surg. Am.*, 2004, 86A, 455–64
17. Kolf C M, Cho E, Tuan R S. Mesenchymal stromal cells. Biology of adult mesenchymal stem cells: regulation of niche, self-renewal and differentiation. *Arthritis Res. Ther.*, 2007, 9, 204
18. Lee K B, Hui J H, Song I C et al. Injectable mesenchymal stem cell therapy for large cartilage defects—a porcine model. *Stem Cells*, 2007, 25, 2964–71
19. Leskelä H V, Risteli J, Niskanen S et al. Osteoblast recruitment from stem cells does not decrease by age at late adulthood. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2003, 311, 1008–13
20. Martin J A. Chondrocyte senescence, joint loading and osteoarthritis. *Clin. Orthop. Relat. Res.*, 2004, 427, 96–103
21. Moseley J B, O'Malley K, Petersen N J et al. A controlled trial of arthroscopic surgery for osteoarthritis of the knee. *N. Engl. J. Med.*, 347, 81–8
22. Murphy J M, Dixon K, Beck S et al. Reduced chondrogenic and adipogenic activity of mesenchymal stem cells from patients with advanced osteoarthritis. *Arthritis Rheum.*, 2002, 46, 704–13
23. Murphy J M, Fink D J, Hunziker E B et al. Stem cell therapy in a caprine model of osteoarthritis. *Arthritis Rheum.*, 2003, 48, 3464–74
24. Muschler G F, Nitto H, Boehm C A et al. Age- and gender-related changes in the cellularity of human bone marrow and the prevalence of osteoblastic progenitors. *J. Orthop. Res.*, 2001, 19, 117–25
25. Nixon A J, Haupt J L, Frisbie D D et al. Gene-mediated restoration of cartilage matrix by combination insulin-like growth factor-I/interleukin-1 receptor antagonist therapy. *Gene Ther.*, 2005, 12, 177–86
26. Peterson L. Treatment of osteochondritis dissecans of the knee with autologous chondrocyte transplantation: results at two to ten years. *J. Bone Joint Surg. Am.*, 2003, 85A, 17–24
27. Pittenger M F, Mackay A M, Beck S C et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*, 1999, 284, 143–47
28. Quarto R, Thomas D, Liang C T et al. Bone progenitor cell deficits and the age-associated decline in bone repair capacity. *Calcif. Tissue Int.*, 1995, 56, 123–9
29. Scharstuhl A, Schewe B, Benz K et al. Chondrogenic potential of human adult mesenchymal stem cells is independent of age or osteoarthritis etiology. *Stem Cells*, 2007, 25, 3244–51
30. Steinert A F, Ghivizzani S C, Rethwilm A et al. Major biological obstacles for persistent cell-based regeneration of articular cartilage. *Arthritis Res. Ther.*, 2007, 9, 213
31. Trippel S B, Ghivizzani S C, Nixon A J et al. Gene-based approaches for the repair of articular cartilage. *Gene Ther.*, 2004, 11, 351–9
32. Nöth U, Steinert A F, Tuan R S. Technology Insight: adult mesenchymal stem cells for osteoarthritis therapy. *Nat. Clin. Pract. Rheumatology*, 2008, 4, 371–80
33. Wakitani S, Mitsuoka T, Nakamura N et al. Autologous bone marrow stromal cell transplantation for repair of full-thickness articular cartilage defects in human patellae: two case reports. *Cell Transplant.*, 2004, 13, 595–600

Поступила 05.02.09