МЕХАНИЗМЫ ЭМБРИОГЕНЕЗА ПРИ ОСТЕОАРТРОЗЕ: РОЛЬ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ХОНДРОЦИТОВ В РЕЗОРБЦИИ СУСТАВНОГО ХРЯЩА

Контакты: Елена Васильевна Четина

Contact: Elena Vasilyevna Chetina etchetina@mail.ru

Остеоартроз (ОА) — хроническое, медленно прогрессирующее, системное заболевание суставов, характеризующееся необратимыми дегенеративно-деструктивными изменениями, в первую очередь в суставном гиалиновом хряще, сопровождающееся болью, нарушением функции, деформацией, а также развитием умеренно выраженного синовита [1–8]. ОА занимает ведущее место среди заболеваний опорно-двигательного аппарата. От него страдает от 10 до 16% населения земного шара, преимущественно в возрасте 45–55 лет, с преобладанием женщин.

Различают первичный (идиопатический) и вторичный ОА. Первичным его называют, когда не удается выяснить причину заболевания и предполагается, что он возникает на фоне здорового прежде хряща. Вторичный ОА развивается на фоне травмы или других заболеваний: эндокринных (сахарный диабет, акромегалия); метаболических (гемохроматоз, охроноз, подагра), ревматических и т. д.

В хряще здорового человека анаболические и катаболические процессы, регулируемые хондроцитами, уравновешены. Внеклеточный матрикс (ВКМ) здорового хряща, продуцируемый хондроцитами, состоит преимущественно из коллагена 2-го типа, гликозаминогликанов и гликопротеинов. Кроме структурных компонентов матрикса (коллаген 2-го типа, протеогликаны), хондроциты продуцируют протеазы и коллагеназы, осуществляющие его частичное разрушение в целях обновления.

Фундаментальной чертой патологии ОА являются дегенеративно-деструктивные изменения, происходящие в суставном хряще вследствие разрушения внеклеточного матрикса. При этом скорость резорбции значительно превышает возможности восстановления хряща. Деструкция хрящевой ткани происходит за счет повышенной активности протеаз, усиленной цитокинами. В этом процессе принимают участие металлопротеиназы матрикса (ММП) и коллагеназы, преимущественно ММП 13. При разрушении хряща наблюдается повышение экспрессии интерлейкинов α и β (IL 1 α/β), а также фактора некроза опухолей α (ФНО α) активирующих металлопротеиназы [9, 10].

Одновременно при ОА в хряще происходят анаболические процессы, которые могут быть причиной фенотипических изменений в хондроцитах. Известно несколько фенотипических форм хондроцитов, различающихся продукцией специфических матриксных молекул. Хондроциты ранних этапов дифференциации из мезенхимы распознаются по появлению в матриксе коллагена типа 2А. Проллиферирующие хондроциты в основном синтезируют коллаген типа 2В, гипертрофированные хондроциты в зоне терминальной дифференциации ростковой пластинки ха-

рактеризуются повышенной экспрессией коллагена 10-го типа. Дедифференциация клеток хрящевой ткани сопровождается экспрессией коллагенов 1-го и 3-го типов. Нередко в суставном хряще при ОА наблюдается экспрессия белков, свойственных разным фенотипическим формам хондроцитов.

СУСТАВНОЙ ХРЯЩ И ЕГО ОРГАНИЗАЦИЯ

Строение и зональная структура хряща

Суставной хрящ является высоко специализированной скелетной тканью, которая формируется там, где необходима эластичная структура, способная восстанавливать форму после деформации [11].

Суставной хрящ состоит из клеток и внеклеточного матрикса (ВКМ). ВКМ содержит 65–80% воды [12–14]. Количество воды максимально в поверхностной зоне и выше, чем в глубоких слоях хряща [15]. Коллагены 2, 9 и 11-го типов обеспечивают эластичность хряща. Коллагены (главным образом, 2-го типа) составляют 15–25% по сырому весу и 50% по сухому весу, за исключением поверхностной зоны, где они составляют 100% сухого веса [16].

Коллагеновые фибриллы образуют в ВКМ обширную сеть. 90% фибрилл состоит из коллагена 2-го типа. Он синтезируется в виде молекулы, представленной 3 идентичными α -цепями, которые формируют тройную спираль, на концах которой расположены очень короткие аминокислотные карбокси-телопептидные домены. Они удаляются посредством аминокислотных карбокси-специфичных протеиназ в процессе образования фибриллы. Помимо коллагена 2-го типа в формировании фибрилл участвуют коллагены 9-го и 11-го типов, а также богатые лейцином протеогликаны: декорин, фибромодулин и люмикан [17]. Они способствуют уменьшению конечного диаметра фибриллы в процессе ее формирования. Коллаген 6-го типа образует разветвленные сети, которые связываются с декорином и гиалуроновой кислотой.

Вторую доминирующую структуру суставного хряща составляет протеогликан агрекан, который соединяется с гиалуроновой кислотой и стабилизируется связывающим белком. Агрекан обеспечивает устойчивость хряща к сжатию за счет гидратирования его многочисленных хондроитин- и кератан-сульфатных боковых цепей. Он обеспечивает жесткость хряща, составляет 10% его сырого и 25% сухого веса [18]. Гликозаминогликановые цепи агрекана могут связывать воду в количестве, которая в 50 раз превышает их собственную массу.

В хряще выделяют несколько основных структурных зон. В поверхностной зоне клетки уплощены и подвергаются наибольшему растяжению и сжатию, поэтому она отличается максимальной пластичностью [19]. Коллагеновые волокна в самом верхнем слое матрикса тоньше и рас-

положены параллельно друг другу и поверхности хряща. Вблизи поверхности сконцентрированы протеогликан бигликан и обогащенный лейцином белок декорин, которые тесно связаны с коллагеновыми фибриллами [20, 21]. Здесь присутствует и протеогликан большого размера (агрекан). Однако его концентрация в поверхностной зоне невелика. Она увеличивается по мере продвижения в глубину, в отличие от содержания коллагена, которое в глубоких слоях уменьшается.

Средняя зона состоит из круглых клеток, окруженных большим количеством матрикса. Здесь плотность клеток меньше, чем в поверхностном слое, а ВКМ обогащен агреканом. Коллагеновые фибриллы крупнее в диаметре и расположены менее упорядоченно.

В глубокой зоне плотность клеток наименьшая. Они часто сгруппированы в кластеры и напоминают гипертрофированные хондроциты ростковой пластинки. В этой зоне наблюдаются наибольшая концентрация агрекана и максимальный диаметр фибрилл коллагена, хотя содержание последнего наименьшее. В целом, плотность клеток максимальна в поверхностном слое. В средней зоне она уменьшается наполовину, а в глубокой — в 3 раза [22]. Плотность клеток также уменьшается с возрастом [23].

К глубокой зоне примыкает зона кальцификации, которая связывает хрящ с субхондральной костью и, вероятно, обладает механическими свойствами как хряща, так и кости [24]. Хондроциты этой зоны обычно имеют фенотип гипертрофированных клеток. Уникальность клеток этой зоны состоит в том, что они синтезируют коллаген 10-го типа и могут кальцифицировать ВКМ.

Внеклеточный матрикс вокруг хондроцитов неоднороден. Его можно разделить на области, которые различаются по своей структуре. Все хондроциты окружены перичеллюлярным (околоклеточным) матриксом толщиной до 2 мкм, который содержит коллагеновые фибриллы преимущественно коллагена 6-го типа и протеогликаны декорин и агрекан. Вокруг перичеллюлярного матрикса расположена интертерриториальная зона, которая значительно отличается от него по строению и составу протеогликанов [25]. Межтерриториальный матрикс наиболее отдален от хондроцита и присутствует в глубокой зоне. Он беден агреканом по сравнению с перичеллюлярной областью. В этой области присутствует наибольшее количество продуктов расщепления агрекана, накапливающихся в результате его неполного протеолиза и ассоциации с гиалуроновой кислотой.

Функциональная характеристика здорового хряща

Здоровый хрящ имеет низкий уровень метаболизма, поскольку он лишен кровеносных сосудов и его питание осуществляется путем диффузии. Поэтому он отличается очень низким уровнем экспрессии коллагенов 2, 6, 9 и 11-го типов [26] и относительно высоким кругооборотом агрекана [27]. В здоровом хряще экспрессируются гены, участвующие в сохранении матрикса, например ММП 3 [28]. Иногда в нем наблюдается экспрессия ММП 1, 8, 13 [29] и ряда ростовых факторов: трансформирующего фактора роста $\beta 1$ (ТФР $\beta 1$) [30] и белка, родственного паратиреоидному гормону (РТНГР) [31]. Кроме того, во всех зонах хряща содержится антиангиогенный фактор хондромодулин 1 и $p16INK4\alpha$, который связывают с внешним и внутренним стрессом [32]. В здоровом хряще очень ограничены репликация хондроцитов [33], экспрессия ТФР $\beta 1$, отсутствует экспрессия ТФР $\beta 2$, основной фактор роста фиб-

робластов — ФРФ 2, инсулиновый фактор роста (ИФР) 1, Ihh [34], коллагены 1, 3 или 10-го типов [35, 36], остеокальцин [37], аннексин VIII [38], а скорость апоптоза хондроцитов очень мала [39].

Зональная экспрессия генов и соответствующих им белков в здоровом суставном хряще

Разные зоны суставного хряща различаются по экспрессии специфических молекул матрикса, модифицирующих их ферментов и регуляторных ростовых факторов, которые обеспечивают целостность хряща. При этом, хотя хондроциты зрелого суставного хряща метаболически менее активны, чем хондроциты ростковой пластинки, они экспрессируют ряд общих генов и соответствующих белков.

Уплотненные хондроциты поверхностной зоны синтезируют специализированный матрикс, состоящий из тонких фибрилл [40], а также малых обогащенных лейцином протеогликанов — декорина и бигликана [20]. В то же время содержание агрекана в этой зоне ниже, чем в других. Она богата регуляторными молекулами, такими как ТФР $\beta 1$ и 3, и белками морфогенеза кости (БМК) 1—6 [41, 42]. Пролиферативный потенциал клеток этого слоя определяется экспрессией циклина D2. Однако деление может ингибироваться специфическими генами $Gas1$ и $GADD45\alpha$, которые здесь также обнаружены [42]. Это может служить объяснением сложности выявления пролиферативной активности путем окрашивания на PCNA (ядерный антиген пролиферирующих клеток) [43]. ММП 3 в этой зоне хряща экспрессируется чаще, чем ММП 1, 8 и 13, однако эта протеиназа не участвует в разрушении хряща, а функционирует в кругообороте матрикса [29, 44]. Экспрессия антиапоптозных генов $Bcl 2$ и $Bgl 1$ у старых мышей наблюдалась только в данной зоне, тогда как у молодых животных эти гены экспрессировались во всех зонах [45].

Круглые хондроциты средней зоны окружены матриксом, который содержит толстые коллагеновые фибриллы и характеризуется высоким содержанием агрекана. Судя по отсутствию окрашивания на PCNA, пролиферативная активность для клеток этого слоя не характерна [43]. Тем не менее они, вероятно, обладают способностью к пролиферации, поскольку у мышей наблюдали экспрессию ФРФ 2 [46], который способен индуцировать пролиферацию клеток в культуре [47]. В этой зоне также наблюдали экспрессию БМК 1—7 [41].

Сгруппированные в кластеры хондроциты глубокой зоны суставного хряща производят матрикс с самым высоким содержанием агрекана [48], самым низким количеством обогащенных лейцином протеогликанов [20] и самым большим диаметром фибрилл коллагена. Подобно зоне гипертрофии ростковой пластинки в глубокой зоне суставного хряща выявляется экспрессия БМК 1—7 [41], Ihh [49] и наибольшее количество клеток с положительной реакцией на аннексин VI [43]. В самом нижнем отделе глубокой зоны, где она частично кальцифицирована, определяется маркер гипертрофии — коллаген 10-го типа — и значительное количество щелочной фосфатазы, а иногда и ММП 13 [29]. Кроме того, в глубокой зоне присутствует незначительное число апоптозных клеток [50, 51].

Специфика экспрессии генов и соответствующих белковых молекул в зрелом суставном хряще определяется особенностями метаболизма ростковой пластинки, где хрящ формируется в онтогенезе в процессе образования кости из первичного хрящевого рудимента.

РОСТКОВАЯ ПЛАСТИНКА: КЛЕТОЧНАЯ ФИЗИОЛОГИЯ, ФОРМИРОВАНИЕ ХРЯЩА И МИНЕРАЛИЗАЦИЯ

Процесс эндохондрального формирования кости представляет собой пролиферацию формирующих матрикс хондроцитов и их дифференциацию в неспособные к делению гипертрофированные клетки, которые участвуют в ремоделировании и минерализации хрящевого матрикса, что ведет к последующему замещению его костью в ростковой пластинке.

Структура и организация ростковой пластинки

В ростковой пластинке выделяют несколько функционально-независимых зон.

Резервная зона, непосредственно прилегающая к пролиферативной зоне, содержит сферические клетки, которые практически не делятся [52]. В пролиферативной зоне клетки делятся и производят длинные колонки уплощенных клеток, которые секретируют ВКМ, преимущественно содержащий коллаген 2-го типа. Их форма определяется действием продольной силы давления и напоминает хондроциты поверхностной зоны суставного хряща, на который действуют силы сжатия и растяжения.

В зоне гипертрофии клетки увеличиваются в размерах в 5—10 раз [53—55], что приводит к сокращению количества матрикса в расчете на единицу объема ткани. При этом происходит интенсивная денатурация коллагенов 2, 9 и 11-го типов коллагеназами и их удаление, в то время как содержание протеогликанов увеличивается по мере увеличения размеров хондроцитов [55—57].

После резорбции и ремоделирования остаточный матрикс начинает кальцифицироваться в тех участках продольных септ, где сконцентрированы молекулы протеогликанов [56]. Здесь происходит отложение минерала гидроксилатапта [Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂], в котором молярное соотношение Ca²⁺/неорганический фосфат (Pi) равно 1,67 [58]. С-пропептид коллагена 2-го типа, который является кальций-связывающим белком, аккумулируется в участках минерализации [59]. Эти изменения сопровождаются процессами ангиогенеза, когда капилляры внедряются в поперечные септы, отделяя зону гипертрофии от метафиза [60]. Многие минерализованные продольные септы содержат хондрокласты, которые идентичны остеокластам [60]. Септы служат хрящевыми каркасами, где остеобласты формируют кость, секретируя остеоид, который кальцифицируется давая начало первичной ретикулофиброзной (woven) кости. Она покрывает кальцифицированные хрящевые трабекулы. Позднее ретикулофиброзная кость и кальцифицированные трабекулы резорбируются остеокластами и замещаются зрелой губчатой (cancellous) костью.

Особенности хондроцитов ростковой пластинки на клеточном уровне. Синтез матрикса

Большинство молекул матрикса синтезируется в зоне пролиферации и верхнем отделе зоны гипертрофии. Здесь также содержится наибольшее количество мРНК коллагена 2-го типа [61, 62]. В нижнем отделе зоны гипертрофии ростковой пластинки птиц и человека синтез матрикса отсутствует. Вместе с тем коллаген 2-го типа определяется в везикулах эндоплазматического ретикулума гипертрофированных клеток, что указывает на некоторое сохранение синтеза ВКМ этими хондроцитами или неспособность клеток транспортировать его во внеклеточное пространство [63].

В дополнение к коллагену 2-го типа в ростковой пластинке синтезируются коллагены 9, 10 и 11-го типов. При этом коллаген 1-го типа отсутствует, а коллаген 10-го типа синтезируется только гипертрофированными хондроцитами и составляет до 45% общего количества коллагена, синтезируемого в этой зоне [64].

Большие богатые хондроитин-сульфатами протеогликаны, которые образуют агрегаты с гиалуроновой кислотой, также синтезируются хондроцитами ростковой пластинки. При этом хондроитин-6-сульфат, в отличие от хондроитин-4-сульфата, преимущественно присутствует в зоне гипертрофии [65]. Хондроциты ростковой пластинки также синтезируют некоторые небольшие протеогликаны.

Природа гипертрофии и ангиогенез в ростковой пластинке

Созревание прегипертрофированных хондроцитов в гипертрофированные представляет собой запрограммированный процесс, зависящий от наличия условий, которые создаются как компонентами матрикса, так и, возможно, гормональным воздействием. В связи с этим интересна костно-хрящевая структура кия птиц, в которой представлены разные стадии развития хондроцитов, начиная с пролиферативных клеток в дистальной (хвостовой) области и заканчивая гипертрофированными клетками проксимальной части. При этом только хондроциты проксимальной части способны образовать кость. Когда хвостовые хондроциты культивируются на гелях из коллагена 1-го типа, они формируют гипертрофированные клетки и синтезируют коллаген 10-го типа [17]. Этот процесс ингибируется протеогликанами хряща, хондроитин-сульфатом и гиалуроновой кислотой.

Естественное вращение капилляров в области нижнего отдела зоны гипертрофии является примером ангиогенеза как физиологического события. Сообщалось, что молекулы, определяющие хемотаксис эндотелиальных клеток, которые расположены по соседству, также продуцируются хондроцитами [66].

Васкуляризация является непременным условием превращения хряща в кость, поскольку в отсутствие васкуляризации хрящ не способен кальцифицироваться [67]. Это подтверждено в опытах на животных. Так, при подкожном введении деминерализованного костного матрикса крысам происходило образование хряща, который превращался в кость, в то время как культивирование деминерализованного матрикса *in vitro* в присутствии клеток скелетных мышц приводило только к образованию хряща, однако кальцификации не происходило.

Зональная экспрессия генов и соответствующих им белков в ростковой пластинке

Хондроциты резервной зоны очень слабо делятся, о чем свидетельствует низкая экспрессия PCNA-антигена [42]. Они производят много ВКМ, который преимущественно состоит из коллагена 2-го типа и агрекана. Между тем в нем также присутствуют коллагены 6, 9 и 11-го типов, связующий (link) белок и малые, обогащенные лейцином протеогликаны (SLRP), такие как декорин и фибромодулин [42]. В данной зоне также наблюдали экспрессию ряда регуляторных ростовых факторов, таких как БМК 3, 5, 7 и ТФР β1—3 [41, 42, 68—70].

Активный характер деления хондроцитов пролиферативной зоны подтверждается экспрессией циклинов [62] и присутствием хондроцитов с положительным сиг-

налом на PCNA [71]. Удлиненные плоские колонки хондроцитов производят гиалиновый матрикс, похожий на ВКМ резервной зоны. Пространство для вновь образующихся в процессе деления клеток обеспечивается активностью коллагеназ ММП 13 и МТ1 ММП [57, 72], а также ММП 3, способных разрушать полимеры матрикса [73]. Эти клетки также экспрессируют ростовые факторы, связанные с пролиферацией, например ТФР β 1–3, ФРФ 2 [46, 62, 70, 74], РТНгР, ИФР I и II [62, 75], регулятор апоптоза, Bcl 2 [76] и фактор транскрипции Sox9 [62, 77]. При этом, хотя РТНгР [78], ТФР β 2 и ФРФ 2 [79], как было показано у грызунов, способны активировать экспрессию ММП 13, в верхнем отделе пролиферативной зоны ростковой пластинки их экспрессия не индуцирует значительной потери матрикса, возможно, вследствие отсутствия продукции желатиназ (ММП 2 и 9) [62, 80].

Отсутствие деления клеток в зоне гипертрофии сопровождается повышением экспрессии ингибиторов клеточного цикла p18, p19 и p21 [81], GADD 45beta (Growth Arrest and DNA Damage-inducible 45beta gene) [34], а также ингибиторов апоптоза Bcl 2 и Bag 1 (Bcl 2-associated anthanogen) — Bcl 2-связывающего белка, способного усиливать активность Bcl 2 [45, 68]. При этом хондроциты частично резорбируют ВКМ, увеличиваются в размерах, приобретают округлую форму и в результате созревают в гипертрофированные клетки, которые начинают экспрессировать коллаген 10-го типа (COL10A1). Начало синтеза COL10A1 является сигналом к изменению фенотипа прегипертрофированных хондроцитов в гипертрофированные. Щелочная фосфатаза (ALP) наиболее сильно экспрессируется также в гипертрофированных хондроцитах [34]. Эти фенотипические изменения хондроцитов ростковой пластинки связаны со значительными изменениями экспрессии других генов, например с увеличением экспрессии ростовых факторов ТФР β 1 [62, 74], белков морфогенеза кости (БМК) 2, 4, 6 и 7 [41, 69, 82], ростового фактора соединительной ткани (СТGF) [83], VEGF [80], Ihh [62, 84], а также маркера апоптоза — каспазы 3 [68], которые регулируют метаболизм хондроцитов в этой зоне. Незначительную экспрессию ИЛ 1 также наблюдали только в гипертрофированных хондроцитах [85].

Перечисленные регуляторные ростовые факторы экспрессируются совместно с фактором транскрипции Runx2, который важен не только для дифференцировки остеобластов [86], но и для созревания хондроцитов при эндохондральной оссификации [87] и способен индуцировать экспрессию ММП 13 [88].

Экспрессия ростовых и транскрипционных факторов в зоне гипертрофии также сопровождается усилением экспрессии белков матрикса, например коллагена 2-го типа, и разрушающих их коллагеназы ММП 13 и желатиназ ММП 2, 9 и 3 [61, 62, 82]. Это сопровождается интенсивной деградацией коллагена 2-го типа [57] и свидетельствует о том, что гены синтеза и деградации матрикса регулируются взаимосвязанно. Однако агрекан сохраняется в ткани на этой стадии [21].

В нижнем отделе зоны гипертрофии локально инициируется минерализация (или кальцификация) матрикса, оставшегося после резорбции [21]. При этом происходит отложение минерала гидроксиапатита [55]. Процесс минерализации в нижнем отделе зоны гипертрофии ростковой пластинки сопровождается экспрессией остеокальцина, который является маркером зрелых остео-

бластов и, как предполагается, участвует в минерализации хондроцитов, гомеостазе Ca^{2+} и увеличении экспрессии ANK (белка анкилозы), который ответствен за транспорт внутриклеточного неорганического фосфата во внеклеточное пространство [89]. Минерализация, вероятно, регулируется аннексинами II, V и VI, которые интенсивно экспрессируются в поздне-гипертрофированных хондроцитах ростковой пластинки и формируют кальциевые каналы, облегчающие формирование первичной минеральной фазы [90]. Кроме того, аннексин V, как оказалось, способен индуцировать экспрессию аннексинов II и VI, остеокальцина, Runx2 и ALP, а также стимулировать апоптозную активность в нижнем отделе зоны гипертрофии [75, 91]. Пик экспрессии ТФР β 2 в хондроцитах данной области [62], вероятно, связан с формированием остеобластов.

Следовательно, созревание хондроцитов в ростковой пластинке ассоциируется с последовательной экспрессией регуляторных ростовых и транскрипционных факторов, вызывающих изменения фенотипа клеток и синтез характерного для каждой стадии матрикса, который резорбируется в зоне гипертрофии. Для координации этих процессов в ростковой пластинке функционируют специфические регуляторные механизмы.

Регуляция дифференцировки хондроцитов в ростковой пластинке

Дифференцировка хондроцитов инициируется в центре хрящевого рудимента кости и, как считается, индуцируется гипоксией и/или недостатком снабжения питательными веществами [92]. Скорость дифференцировки хондроцитов регулируется многочисленными агентами, включая паракринные и аутокринные ростовые факторы и гормоны [21]. Между тем изменения фенотипа хондроцитов на каждой стадии дифференцировки связаны с экспрессией специфических функциональных молекул, продуцируемых хондроцитами в зависимости от локализации в ростковой пластинке. Поэтому в данном разделе внимание будет сконцентрировано на аутокринных факторах, индуцирующих фенотипические модификации в хондроцитах ростковой пластинки.

Ростовые факторы, секретлируемые зародышевыми хондроцитами, ответственны за взаимоисключающие процессы пролиферации и/или терминальной дифференцировки. Так, например, ростовые факторы, ассоциированные с пролиферацией, такие как основной фактор роста фибробластов (ФРФ 2) и пептид, родственный паратириндному гормону (РТНгР), стимулируют покоящиеся хондроциты к пролиферации и подавляют терминальную дифференцировку гипертрофированных хондроцитов [93–96]. Кроме того, РТНгР в комбинации с другим ростовым фактором — Indian hedgehog (Ihh) — регулирует дифференцировку хондроцитов посредством механизма обратной связи, а при совместном действии Ihh и РТНгР способны подавить гипертрофию [97]. С другой стороны, взаимодействие Ihh и синдекана 3, который служит ко-рецептором этого ростового фактора, необходимо для ограничения митотической активности пределами пролиферативной зоны ростковой пластинки млекопитающих [98].

Трансформирующие факторы роста β (ТФР β) являются мультифункциональными молекулами, регулирующими клеточную пролиферацию, дифференцировку и функционирование ВКМ. ТФР β , транспортируемый от апоптозных хондроцитов в область клеточного деления,

способен стимулировать формирование матрикса, поддержку гипертрофической дифференцировки и, таким образом, определять размеры ростковой пластинки [99]. При эндохондральном формировании кости ТФР $\beta 1$ [100] и ТФР $\beta 2$ [101] могут подавлять гипертрофию хондроцитов как РТНгР-зависимым, так и РТНгР-независимым путем [31, 100, 102].

Сигналы от БМК также важны для дифференцировки хондроцитов в ростковой пластинке. Специфический профиль экспрессии разных БМК предполагает их участие в фенотипических превращениях хондроцитов как для пролиферации, так и при дифференцировке. Например, БМК 2 и 4 способствуют гипертрофии хондроцитов путем усиления экспрессии *Ihh* и коллагена 10-го типа при одновременном подавлении сигналов от ФРФ [103]. БМК 2 и 9 имеют анаболический потенциал и усиливают митогенный эффект IGF 1, а БМК 5 усиливает пролиферацию клеток и синтез хрящевого матрикса [104, 105].

ИФР (инсулиновый фактор роста) 1 является структурным и функциональным аналогом инсулина. Он способствует пролиферации и дифференцировке хондроцитов и ингибирует апоптоз. Он также является важным регулятором механизма обратной связи РТНгР—*Ihh*. Отсутствие ИФР приводит к снижению экспрессии *Ihh* и увеличению экспрессии РТНгР [106, 107]. ИФР 1 способствует развитию гипертрофии хондроцитов, поскольку он может индуцировать продукцию коллагена 10-го типа и щелочной фосфатазы, например в хондроцитах кля птицы [101, 102]. Помимо этого, инсулин и ИФР 1 являются сильными стимуляторами биосинтеза агрекана и коллагена 2-го типа [108].

Дифференцировка хондроцитов также контролируется различными транскрипционными факторами. Так, транскрипционный фактор *Sox9* регулирует скорость дифференцировки хондроцитов в гипертрофированные, а также экспрессию молекул специфического матрикса хондроцитов, включая коллагены 2, 9 и 11-го типов (*COL2A1*, *COL9A2*, *COL11A1*) и агрекана [109, 110]. Вместе с тем *Sox9* способен препятствовать превращению пролиферирующих хондроцитов в гипертрофированные [77]. Другой транскрипционный фактор, *Runx2*, считается наиболее значимым и играет решающую роль как в созревании хондроцитов, так в индукции экспрессии ММП 13 [87, 88]. Сигналы от *Wnt/beta* катенина также опосредуют гипертрофию хондроцитов, поскольку способны усиливать экспрессию коллагена 10-го типа, *Runx2*, щелочной фосфатазы, при одновременном ингибировании экспрессии *Sox9* и *COL2A1* [94].

В то же время развитие гипертрофии хондроцитов ростковой пластинки может ингибироваться в нескольких контрольных пунктах [102].

В настоящее время показано, что в комбинации ростовые факторы ФРФ 2, ТФР $\beta 2$ и инсулин способны блокировать развитие гипертрофии эмбриональных хондроцитов и формировать у них фенотип, характерный для верхнего отдела зоны пролиферации, а *Ihh* и РТНгР способны модифицировать фенотип прегипертрофированных хондроцитов. Кроме того, перемещение терминально дифференцированных хондроцитов из их окружения в свежую среду приводит к снижению синтеза коллагена 10-го типа, активации их пролиферации и ре-инициации синтеза агрекана [111]. Это может быть связано с регуляторной активностью аутокринных ростовых факторов,

способных подавлять гипертрофию хондроцитов посредством координированного ингибирования экспрессии коллагеназы [95, 102, 112] и ТФР $\beta 1$ [101]. Кроме того, гипертрофию эмбриональных хондроцитов можно также подавить путем прямого ингибирования ММП 13 синтетическими ингибиторами [113].

Другие аутокринные белки могут также вовлекаться в регуляцию дифференцировки хондроцитов в ростковой пластинке. Например, простагландин E2 (ПГЕ2) является мощным липидным соединением, которое регулирует множество физиологических реакций, а также может ингибировать дифференцировку хондроцитов ростковой пластинки путем подавления экспрессии генов и соответствующих им белков, ответственных за дифференцировку эмбриональных хондроцитов: *COL10A1*, *VEGF*, ММП 13 и щелочной фосфатазы [114, 115]. Кроме того, низкие концентрации простагландина способны усиливать пролиферацию хондроцитов ростковой пластинки [17, 116].

Белки внеклеточного матрикса, продуцируемые хондроцитами, также способны регулировать гипертрофию ростковой пластинки. Например, матрилин 3, вероятно, способен ингибировать гипертрофию, поскольку удаление гена, кодирующего этот белок, приводит к преждевременной гипертрофии. Напротив, аннексин V и ANK (анкилозирующий белок) способны стимулировать гипертрофию и минерализацию эмбриональных хондроцитов, если их экспрессировать в неминерализующих хондроцитах ростковой пластинки [89, 91]. Между тем наиболее важно то, что подавление гипертрофии хондроцитов, регистрируемое по подавлению экспрессии коллагена 10-го типа, *Runx2* и ММП 13, ассоциируется с ингибированием активности расщепления коллагена в культуре гипертрофированных хондроцитов ростковой пластинки при их обработке специфическим ингибитором ММП 13 [113]. Это указывает на функциональную связь между гипертрофией хондроцитов и деградацией внеклеточного матрикса.

Таким образом, дифференцировка хондроцитов тщательно регулируется многими аутокринными факторами, определяющими скорость этого процесса в ростковой пластинке.

ВОЗРАСТНЫЕ И ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СУСТАВНОГО ХРЯЩА

Изменения суставного хряща при старении

При старении суставного хряща пролиферативный ответ хондроцитов на сыворотку и ростовые факторы ТФР β , ИЛ 1 и ИФР 1 значительно снижается [106]. Митотический потенциал и длина теломеры также уменьшаются, указывая на то, что теломера необходима для поддержания репликативной способности хондроцитов хряща пожилых людей [117]. Кроме того, наблюдается уменьшение общего синтеза протеогликанов. С возрастом происходит увеличение неэнзиматического гликирования (*glycation*), которое является результатом спонтанной реакции восстановления сахаров (глюкозы) свободными аминокетильными группами белков. Гликированию подвергаются преимущественно коллагеновые молекулы [118]. С увеличением количества конечных продуктов гликирования на молекулу коллагена его фибриллы становятся менее эластичными. Это может способствовать развитию ОА [119]. Вместе с тем гликирование может иметь защитную функцию, поскольку уменьшает освобождение гликозаминогликанов (ГАГ) из хряща [120].

С возрастом также происходит прогрессирующая внеклеточная деградация агрекана, которая приводит к уменьшению длины его цепей. При этом G3-домен редко выявляется, а количество коротких кератан-сульфатированных цепей увеличивается. Содержание G1-домена значительно увеличивается. Большая часть G1-домена связана с гиалуроновой кислотой в отсутствие остальной части молекулы [121]. Эти продукты деградации аккумулируются в глубокой зоне [122], на значительном расстоянии от хондроцитов в межтерриториальном матриксе, где содержится мало ГАГ. Время полужизни G1-домена составляет 19—25 лет, тогда как для целой молекулы оно составляет 3—4 года [123]. Аккумуляция этих продуктов расщепления отражает прогрессирующее повреждение БМК и неспособность к восстановлению поврежденных молекул.

Эластические свойства поверхностной зоны хряща коленного сустава увеличиваются до третьей декады жизни, после чего они с возрастом значительно ослабевают. Деградация коллагена 2-го типа при старении здорового суставного хряща обычно ограничивается перичеллюлярной областью и суставной поверхностью [44, 124—127]. С возрастом также происходит постепенное уменьшение эластических свойств глубокой зоны хряща коленного сустава, хотя общее содержание коллагена не уменьшается [128]. Подобные изменения эластических свойств с возрастом также наблюдались в тазобедренном суставе [19], однако не отмечались в суставах лодыжки [73]. Поскольку ОА с возрастом обычно развивается в коленном и тазобедренном суставах, предполагается, что существует связь между потерей хрящом эластических свойств и развитием ОА. В исследованиях на животных показано, что индукция ОА сопровождалась ослаблением эластических свойств и устойчивости к сжатию, в особенности на суставной поверхности хряща [129]. Это происходит, вероятно, вследствие разрушения коллагеновой сети, что приводит к усиленному поглощению воды, уменьшению концентрации протеогликанов и вследствие этого — к увеличению деформации хрящевой ткани [130].

У людей 30—40 лет возрастные повреждения коллагена 2-го типа в хряще коленных и тазобедренных суставов наблюдаются примерно в 25% случаев, однако после 40 лет они всегда обнаруживаются на гистохимическом уровне [44, 127]. Повреждение возникает на суставной поверхности и прогрессивно распространяется в более глубокие слои хряща. Эти повреждения похожи на ОА, но по степени разрушения и активности расщепления коллагена 2-го типа коллагеназой менее интенсивны [131, 132].

Патологические изменения хряща при остеоартрозе. Разрушение матрикса

При ОА происходит расщепление протеазами молекул матрикса, возможно, с участием свободных радикалов, которые продуцируются хондроцитами [133, 134]. Когда деградация индуцируется в здоровом хряще, например посредством ИЛ 1, первоначально разрушается протеогликан агрекан [135]. Впоследствии деградирует коллаген 2-го типа [136]. Задержка расщепления коллагена 2-го типа в культуре после внесения ИЛ 1 связана с задержкой активации проколлагеназ, которые быстро индуцируются, но медленно активируются [137]. Протеогликаны, связанные с коллагеновыми фибриллами (деко-

рин, бигликан и люмикан), устойчивы к деградации и могут играть протективную роль. Напротив, фибромодулин разрушается на ранних этапах [138]. Продукты деградации могут оставаться в матриксе, поскольку они являются частью макромолекулярных структур, например коллагеновых фибрилл, или входят в состав ковалентно связанных больших молекул, как, например, часть молекулы мономера агрекана соединена с гиалуронатом через G1-домен. Фрагменты агрекана, лишенные G1-домена, легко диффундируют через матриксы, где поглощаются хондроцитами посредством эндоцитоза или поступают в синовиальную жидкость и лимфатическую систему. Продукты деградации коллагена 2-го типа [139] и агрекана, включая G1-домен, также обнаруживаются в синовиальной жидкости [140].

Деградация молекул матрикса является одним из компонентов нормального ремоделирования при росте, развитии и круговороте матрикса у взрослых людей. Этот круговорот тщательно регулируется цитокинами, ростовыми факторами и гормонами посредством синтеза протеиназы, их ингибиторов и структурных молекул матрикса [141]. Избыточный протеолиз может быть результатом дисбаланса между относительными концентрациями протеиназы и ее ингибитора. Он может развиваться в рамках физиологических процессов, как в ростковой пластинке, или ведет к возникновению патологических изменений, как при артрозе. Следовательно, синтез и деградация макромолекул матрикса сбалансированы, особенно в тех структурах, которые функционируют в течение длительного времени, как, например, суставной хрящ.

Экспрессия протеиназ и их активность в хряще при ОА увеличиваются, а содержание ингибиторов протеиназ уменьшается, кроме TIMP 4 [142]. Это приводит к повышению общей коллагеназной активности и на ранних этапах заболевания сопровождается расщеплением агрекана посредством MMP и ADAMTS-TS4 и ADAMTS-TS5 [143] в тех же самых участках, где происходит разрушение коллагена [68]. Локальная потеря агрекана [127], декорина и бигликана [20] с суставной поверхности и иногда вокруг хондроцитов наблюдалась на ранних стадиях ОА у человека и на моделях заболевания у животных. На более поздних стадиях (разрушение в соответствии с классификацией Манкина не менее 6) молекулы агрекана увеличиваются в размерах, а химические и иммунохимические свойства гликозаминогликанов изменяются. Это указывает на потерю молекул, свойственных здоровому хрящу, и их замену вновь синтезированными или частично деградированными протеогликанами. Одновременно увеличивается экспрессия других протеогликанов и начинается синтез различных молекул, ранее наблюдаемых только при хондрогенезе, как, например, тенасцин и коллаген типа 2A.

Расщепление коллагена при ОА приводит к глубокой фибрилляции хряща [144, 145]. При этом происходит потеря коллагена 2-го типа, агрекана и гиалуроновой кислоты [146]. Гистохимически это выявляется в виде обширной потери окрашивания протеогликанов в хряще больных ОА. Разрушение коллагена 2-го типа начинается вокруг хондроцитов на поверхности суставного хряща и постепенно распространяется, вовлекая более глубокие слои по мере прогрессирования заболевания [126]. При этом эластические свойства коллагена хряща утрачиваются [40, 147]. Усиление деформации остеоартрозного хря-

ща существенно коррелирует с деградацией коллагена [148]. В модельных системах усиление деградации коллагена 2-го типа происходит вскоре после разрушения крестообразной связки и предшествует клиническим проявлениям посттравматического ОА [149].

Эксперименты на животных [150] по индукции ОА и анализ аутопсийного материала [146] показали, что на начальных этапах изменения хряща носят очаговый характер и сходны с возрастными очаговыми повреждениями хряща у пожилых людей. Такие нарушения характеризовались усиленным расщеплением коллагена посредством коллагеназ, в основном ММП 13 [151], они экспрессировались в тех же зонах, где происходит расщепление коллагена [126]. Это сопровождалось усилением синтеза и круговорота матрикса. Кроме того, при гистологическом и молекулярном анализе наблюдался градиент изменений, выраженность которых уменьшалась от центра к периферии очага повреждения, окруженного здоровым хрящом [146].

Эти дегенеративные изменения в хряще больных ОА сопровождаются значительными изменениями экспрессии ростовых факторов и цитокинов, что указывает на участие этих молекул в патогенезе заболевания. Показано, что экспрессия ИЛ 1 и ФНО α значительно повышена в хондроцитах больных ОА [152]. Например, при травме суставного хряща у собак, которая приводит к ОА, среди ранних проявлений наблюдали повышение экспрессии ИЛ 1 и ФНО α , а также стромелизина-1 (ММП 3) [153]. Чувствительность хондроцитов к разрушению ИЛ 1 и ФНО α различна в разных участках сустава больных ОА [154]. Кроме того, ИЛ 1 β может индуцировать секрецию ИФР 1 и ИФР-связывающих белков хондроцитами, а также увеличивать количество его рецепторов, хотя не влияет на уровень экспрессии РНК ИФР 1 [155]. Напротив, ИФР 1 может противодействовать активности ИЛ 1, индуцируя экспрессию растворимого белка ИЛ 1 рецептора 2 [90].

При этом наблюдаются усиленный синтез и усиленная экспрессия ИФР 1 (потенциального стимулятора синтеза матрикса) в хрящах больных ОА [156], что сопровождается усилением связывания его рецептора [157]. Создается впечатление, что катаболические цитокины могут индуцировать анаболические реакции в хондроцитах для регуляции катаболической активности [156]. Экспрессия остеопонтина значительно повышена в хряще больных ОА и также может влиять на уровень деградации матрикса посредством ингибирования спонтанной продукции ИЛ 1 β -зависимых NO и ПГЕ2 [158]. Между тем остеопонтин, как и пирофосфат, может подавлять депонирование гидроксиапатита, которое наблюдается при ОА [159].

Потеря молекул матрикса может частично компенсироваться повышением содержания коллагена 2-го типа, агреккана, декорина и бигликана в более глубоких участках хряща вследствие повышения скорости их синтеза. Несмотря на это поверхностный хрящ значительно разрушается [40]. Общая деградация сопровождается потерей хрящевого матрикса. При этом, в отличие от здорового хряща, при ОА деградируют вновь синтезированные молекулы коллагена [151].

При деградации суставного хряща часто наблюдается прорастание кровеносных сосудов из субхондральной кости. В частности, экспериментальные исследования

ангиогенеза с использованием хориоалантоисной мембраны цыплячьего эмбриона показали, что хрящ больных ОА теряет способность противостоять инвазии сосудов [160], возможно, вследствие продукции ангиогенных молекул, таких как VEGF. Эти молекулы обычно синтезируются гипертрофированными хондроцитами ростковой пластинки.

Клеточные изменения при деградации суставного хряща

В начале ОА в хондроцитах происходят изменения, аналогичные тем, что наблюдаются при гипертрофии хондроцитов ростковой пластинки [161]. Например, увеличивается экспрессия коллагена 10-го типа [162], РТНгР [31] и аннексинов 2 и 5 [163]. Все эти молекулы экспрессируются в регипертрофированных и гипертрофированных хондроцитах, регулируя апоптозную активность [164] и кальцификацию матрикса [165]. Эти процессы сопровождаются избыточным расщеплением коллагена 2-го типа, как и в ростковой пластинке [44]. При этом если разрушение матрикса ростковой пластинки ингибировать синтетическим ингибитором ММП 13, то гипертрофия хондроцитов тоже ингибируется [113]. Более того, обработка здорового хряща коллагеназой индуцирует апоптоз [166]. Поэтому считается, что избыточное разрушение коллагена, наблюдаемое в хрящевом матриксе при ОА, может индуцировать метаболические изменения в клетках. Сходство профилей экспрессии генов и белков, участвующих в разрушении матрикса суставного хряща при ОА и в зоне гипертрофии ростковой пластинки, позволяет предположить, что суставные хондроциты при ОА приобретают фенотип гипертрофированных клеток.

Ингибирование гипертрофии суставных хондроцитов с целью блокады разрушения хряща при ОА

Самопроизвольная репарация суставного хряща очень ограничена во взрослом организме [167]. Однако у детей, больных ювенильным ревматоидным артритом, ослабление активности заболевания иногда сопровождалось восстановлением суставного хряща с увеличением размера суставной щели по данным рентгенографии [168, 169].

Сходство разрушения матрикса при ОА и в зоне гипертрофии первичной ростковой пластинки заключается в повышении активности коллагеназ, ответственных за расщепление коллагена 2-го типа и экспрессии связанных с дифференцировкой регуляторных ростовых факторов и белков матрикса [162, 163]. Сообщения о том, что гипертрофические изменения хондроцитов в ростковой пластинке обратимы [102], означают, что фенотипические изменения суставных хондроцитов при ОА тоже можно модифицировать. Действительно, те же ростовые факторы, а именно ТФР β 2, ФРФ 2 и инсулин [102], которые по отдельности или в комбинации ранее были использованы для подавления гипертрофии хондроцитов ростковой пластинки, способны остановить расщепление коллагена 2-го типа, подавить экспрессию провоспалительных цитокинов, а также генов, связанных с дифференцировкой хондроцитов в эксплантатах суставного хряща больных ОА [170, 171]. Сочетанное применение ТФР β 1 и ИФР 1 подавляло разрушение коллагена, индуцированное онкостатином М в бычьем суставном хряще [108]. Кроме того, главный фактор роста, индуцирующий пролиферацию хондроцитов, РТНгР, способен подавлять

экспрессию генов, связанных с их терминальной дифференцировкой в культуре минерализующих суставных хондроцитов из глубокой зоны, а также в хондрогенных структурах суставного хряща [172]. Следует также добавить, что эти ростовые факторы экспрессируются в пролиферативной зоне ростковой пластинки и регулируют пролиферацию хондроцитов в онтогенезе.

Подавление расщепления коллагена одновременно с ингибированием генов, ответственных за гипертрофию хондроцитов и выработку провоспалительных цитокинов ИЛ 1 β и ФНО α , наблюдалось при обработке эксплантатов хряща больных ОА низкими концентрациями простагландина E2 (ПГЕ2) [114, 115]. Хотя ПГЕ2 экспрессируется во всех зонах ростковой пластинки, он требуется преимущественно для пролиферации эмбриональных хондроцитов [116], а также способен ингибировать их терминальную дифференцировку и экспрессию провоспалительных медиаторов [173]. В то же время снижение экспрессии генов, локализующихся в зоне гипертрофии ростковой пластинки и ассоциированных с терминальной дифференцировкой хондроцитов, таких как TAK 1 (активирующая киназа 1 трансформирующего фактора роста), ингибитор циклин-зависимых киназ p16 INK4a, а также инактивация посредством делеции ADAMTS5 или ослабление Runx2 приводили к остановке разрушения матрикса [32, 174, 175].

В то время как разрушение хряща может сдерживаться отдельными факторами роста, для репаративных процессов при ОА может потребоваться их комбинация [176]. Так, ТФР β 2, который эффективно сдерживает разрушение суставного хряща при ОА [170, 171], сам по себе не способен восстановить его анаболические функции, поскольку может подавлять синтез коллагена 2-го типа и агрекана [101, 177]. Напротив, у чувствительных пациентов инсулин может способствовать восстановлению ткани и является главным анаболическим агентом суставного хряща [107]. ФРФ 2 также может способствовать репарации хряща [176] либо самостоятельно, индуцируя при этом собственную экспрессию, либо путем локальной индукции ТФР β [178].

Однако проблема использования ростовых факторов для репарации хряща заключается в их катаболическом потенциале. Например, введение высоких концентраций ТФР β 2 в нормальные суставы кроликов приводило к припуханию сустава, пролиферации фибробластов синовиальной оболочки и значительным потерям протеогликанов хряща [177]. В то же время не сообщалось, что этот ростовой фактор способен оказывать катаболическое действие на суставной хрящ при ОА [170, 171]. Поэтому особое значение имеет использование терапевтических доз ростового фактора в зоне разрушения суставного хряща. В недавних исследованиях показано, что фиброз синови, индуцированный ТФР β 1, можно ингибировать путем совместной гиперпродукции ТФР β 1 и его ингибитора Smad7 [179]. Это приводило к прекращению деградации протеогликанов и повышению их содержания в хрящах мышшей, больных ОА.

Роль воспаления при остеоартрозе

В последнее время интенсивно исследуются вклад воспаления и участие цитокинов в катаболизме хряща при ОА, хотя ОА не считается классической воспалительной артропатией вследствие отсутствия нейтрофилов в синовиальной жидкости и системных проявлений воспа-

ления [10, 180]. При этом инфильтрация мононуклеарными клетками и повышенная экспрессия провоспалительных медиаторов наблюдаются как при раннем, так и при позднем ОА [181]. Исследования *in vitro* и *in vivo* показали, что ИЛ 1 и ФНО α являются преобладающими катаболическими цитокинами, которые участвуют в развитии и прогрессировании разрушения суставного хряща при ОА [182]. Поскольку повышенные уровни катаболических ферментов, простагландинов, окиси азота и других маркеров воспаления в тканях при ОА, вероятно, связаны с повышенными уровнями ИЛ 1 и ФНО α , в настоящее время изучается эффективность антицитокиновой терапии, которая блокирует сигнальные пути, индуцированные этими цитокинами [183, 184].

Вместе с тем главные события патогенеза ОА локализируются внутри самого хряща, и имеются доказательства, что хондроциты участвуют в деструктивном процессе не только отвечая на катаболические цитокины, которые высвобождаются из других тканей сустава, но, возможно, сами являются источниками цитокинов [114, 132, 170, 180, 181, 185]. Поэтому они могут постоянно подвергаться аутокринному и паракринному воздействию ИЛ 1 и других провоспалительных медиаторов в высокой локальной концентрации.

Хондроциты в хряще больных ОА, особенно в участках клональных кластеров, положительно окрашиваются на ИЛ 1 и производят ИЛ 1 α -конвертирующий фермент (каспазу 1) и ИЛ 1-рецептор типа 1. ИЛ 1 синтезируется хондроцитами в концентрации, достаточной для индукции экспрессии ММП, агреканиз и других катаболических генов. Вместе с ФНО α , ММП 1, 3, 8 и 13, а также с эпитопами расщепления коллагена 2-го типа ИЛ 1 локализуется в области разрушения матрикса в хряще больных ОА [21]. Кроме того, показано, что многие провоспалительные медиаторы способствуют развитию гипертрофии хондроцитов — стадии дифференциации этих клеток, ассоциированной с катаболизмом внеклеточного матрикса [186].

Кроме индукции синтеза ММП и других протеиназ хондроцитами, ИЛ 1 и ФНО α усиливают синтез простагландина E2 (ПГЕ2), повышая экспрессию и активность СОХ-2, микросомальной ПГЕ2 синтазы-1 и растворимой фосфолипазы A2. Эти цитокины также повышают продукцию окиси азота с участием индуцируемой NO синтазы, других провоспалительных цитокинов, например ИЛ 6, фактор ингибирования лейкемии (Фил), ИЛ 17, 18, и хемокинов, включая ИЛ 8 [180, 187, 188]. Недавно было выявлено повышение уровня ИЛ 15 в синовиальной оболочке на ранней стадии ОА, которое коррелировало с концентрацией ИЛ 6 [189]. Хондроциты экспрессируют несколько хемокинов, а также имеют рецепторы, которые активируют катаболические процессы в хряще [187]. ИЛ 17, продуцируемый Т-лимфоцитами, также стимулирует выработку провоспалительных цитокинов и сходен по своему действию с ИЛ 1 [188]. Многие из этих факторов в сочетании друг с другом усиливают катаболическую ответную реакцию хондроцитов. Например, онкостатин М оказывает слабое катаболическое действие на хондроциты, опосредованное рецептором gp130, но этот эффект усиливается в комплексе с ИЛ 1 и ФНО α [182, 190].

Наконец, было показано, что активная стадия ОА сопровождается повышением уровней ФНО α и ИЛ 6 в сыворотке крови больных ОА [191]. В других исследованиях также отмечали более высокие уровни ФНО α , ИЛ 1 β ,

10 и 17 в сыворотке и синовиальной жидкости больных ОА по сравнению со здоровыми донорами [192].

Таким образом, хондроциты суставного хряща способны возобновить процесс дифференцировки, сходный с таковым у эмбриональных хондроцитов ростковой пластинки. Дифференцировка хондроцитов лежит в основе разрушения хряща при старческих изменениях, сходных с остеоартрозными. Она начинается задолго до возникающих макроскопических изменений в хряще, регистрируемых гистологически, и проявляется в повышении экс-

прессии генов, которые активны в зонах пролиферации и гипертрофии ростковой пластинки. Разрушение матрикса суставного хряща больных ОА можно остановить действием факторов роста, которые способны блокировать дифференцировку хондроцитов ростковой пластинки. Это сопровождается ингибированием маркерных генов дифференцировки хондроцитов и подавлением активности расщепления коллагена коллагеназой.

Работа осуществлена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 09-04-01158-а).

ЛИТЕРАТУРА

- Алексеева Л.И., Зайцева Е.М. Субхондральная кость при остеоартрозе: новые возможности терапии. РМЖ 2004;12(20):1133–6.
- Алексеева Л.И., Зайцева Е.М. Остеоартроз и остеопороз. Медицина 2006;16:2–7.
- Миронов С.П., Омеляненко Н.П., Семенова Л.А. и др. Структурные изменения суставного хряща при остеоартрозе. Биомед технол 2004;23:91–105.
- Миронов С.П., Омеляненко Н.П., Семенова Л.А., и др. Остеоартроз. Структурная характеристика и клинические проявления. Актуальные проблемы теоретической и клинической остеоартрологии. М., 2005;301–5.
- Миронов С.П., Омеляненко Н.П., Орлецкий А.К. и др. Остеоартроз: современное состояние проблемы (аналитический обзор). Вестн травматол ортопед 2001;2:96–9.
- Насонов Е.Л. Остеопороз и остеоартроз: взаимодействующие или взаимоисключающие болезни? Consilium medicum 2000;2:248–50.
- Насонова В.А. Проблемы остеоартроза в начале XXI века. Consilium medicum 2000;2:244–8.
- Цветкова Е.С., Алексеева Л.А. Возможности и перспективы фармакотерапии остеоартроза. Избранные лекции по клинической ревматологии. Под ред. В.А. Насоновой и Н.В. Бунчука. М., 2001;197–202.
- Коршунов Н.И., Марасаев В.В., Баранова Э.Я. и др. Роль воспаления и оценка хондропротективного действия Афлутопа у больных остеоартрозом по данным магнитно-резонансной томографии коленного сустава. Ревматология 2003;23:1320–3.
- Malemud C.J. Cytokines as therapeutic targets for osteoarthritis. BioDrugs 2004;18:23–5.
- Павлова В.Н., Копьева Т.Н., Слуцкий Л.И. и др. Хрящ. М., 1988;320 с.
- Ким Зон Чхол, Быков В.А., Николаева С.С. Состояние воды в гиалиновом хряще и его основных компонентах. Биомедицинские технологии (Москва) 2000;14:85–90.
- Николаева С.С., Ким Зон Чхол, Быков В.А. и др. Влагообменные процессы в гиалиновом хряще и его основных компонентах в норме и остеоартрозе. Вopr мед химии 2000;46:581–90.
- Николаева С.С., Ким Зон Чхол, Быков В.А. и др. Биохимические и влагообменные характеристики поверхностного слоя суставного хряща человека. Бюл экспер биол и мед 2002;134:390–2.
- Brocklehurst R., Bayliss M., Maurodas A. et al. The composition of normal and osteoarthritic articular cartilage from human knee joints. Bone Joint Surg Am 1984;66:95–106.
- Muir I.H.M. Biochemistry. In: Freeman M.A.R., ed. Adult articular cartilage, 2nd ed. Tunbridge Wells, UK: Pitman Medical, 1979;145–214.
- Thomas J.T., Grant M.E. Cartilage proteoglycan aggregate and fibronectin can modulate the expression of type X collagen by embryonic chick chondrocytes cultured in collagen gels. Biosci Rep 1988;8:163–71.
- Слюсаренко Н.А., Капустин Л.Ф., Торба А.И. Функциональная морфология коленного сустава у собак в норме и в условиях действия глюкозамина. Биомед технол 1998;9:44–8.
- Kempson G.E. Age-related changes in the tensile properties of human articular cartilage: a comparative study between the femoral head of the hip joint and the talus of the ankle joint. Biochim Biophys Acta 1991;1075:223–30.
- Poole A.R., Rosenberg L.C., Reiner A. et al. Contents and distribution of the proteoglycans decorin and biglycan in normal and osteoarthritic human articular cartilage. J Orthop Res 1996;14:681–9.
- Poole A.R. Cartilage in health and disease. In: Arthritis and Allied Conditions: A Textbook of Rheumatology, ed 15. Ed. by W. Koopman. Philadelphia, Lippincott: Williams and Wilkins, 2005;223–69.
- Mitrovic D., Quintero M., Stankovic A. et al. Cell density of adult human femoral condylar articular cartilage: joints with normal and fibrillated surfaces. Lab Invest 1983;49:309–16.
- Evans C. An inverse relationship between mammalian lifespan and cartilage cellularity. Exp Gerontol 1983;18:137–8.
- Жилкин Б.А., Докторов А.А., Денисов-Никольский Ю.И. Минеральный компонент гиалинового хряща. Биомедицинские технологии. М., 2002;140–6.
- Poole A.R., Pidoux I., Reiner A. et al. An immunoelectron microscope study of the organization of proteoglycan monomer, link protein and collagen in the matrix of articular cartilage. J Cell Biol 1982;93:921–37.
- Buckwalter J.A., Mankin H.J. Articular cartilage repair and transplantation. Arthr Rheum 1998;41:1331–42.
- Hardingham T.E., Bayliss M.T., Rayan V. et al. Effects of growth factors and cytokines on proteoglycan turnover in articular cartilage. Br J Rheumatol 1992;31(Suppl. 1):6.
- Aigner T., Zien A., Hanisch D. et al. Gene expression in chondrocytes assessed with use of microarrays. J Bone Joint Surg Am 2003;85A(Suppl. 2):117–23.
- Tetlow L.C., Adlam D.J., Woolley D.E. Matrix metalloproteinase and proinflammatory cytokine production by chondrocytes of human osteoarthritic cartilage: associations with degenerative changes. Arthr Rheum 2001;44:585–94.
- Van den Berg W.B. Growth factors in experimental osteoarthritis: Transforming growth factor beta pathogenic? J Rheumatol 1995;22(Suppl. 43):143–5.
- Terkeltaub R., Lotz M., Johnson K. et al. Parathyroid hormone-related protein is abundant in osteoarthritic cartilage, and the parathyroid hormone-related protein 1–173 isoform is selectively induced by transforming growth factor beta in articular chondrocytes and suppresses generation of extracellular inorganic pyrophosphate. Arthr Rheum 1998;41:2152–64.
- Zhou H.W., Lou S.Q., Zhang K. Recovery of function in osteoarthritic chondrocytes induced by p16INK4a-specific siRNA in vitro. Rheumatology (Oxford) 2004;43:555–68.
- Aigner T., Berting W., Stoss H. et al. Independent expression of fibril-forming collagens I, II and III in chondrocytes in human osteoarthritic cartilage. J Clin Invest 1993;91:829–37.
- Henson F.M., Davies M.E., Skepper J.N. et al. Localization of alkaline phosphatase in equine growth cartilage. J Anat 1995;187(Pt 1):151–9.
- Aigner T., McKenna L. Molecular pathology and pathobiology of osteoarthritic cartilage. Cell Mol Life Sci 2002;59:5–18.
- Poole A.R. What type of cartilage repair are we attempting to attain? J Bone Joint Surg 2003;85A(Suppl. 2):40–4.
- Pullig O., Weseloh G., Ronneberger D. et al. Chondrocyte differentiation in human osteoarthritis: expression of osteocalcin in

- normal and osteoarthritic cartilage and bone. *Calcif Tissue Int* 2000;67:230–40.
38. White A.H., Watson R.E., Newman B. et al. Annexin VIII is differentially expressed by chondrocytes in the mammalian growth plate during endochondral ossification and in osteoarthritic cartilage. *J Bone Miner Res* 2002;17:1851–8.
 39. Martin I., Jakob M., Schafer D. et al. Quantitative analysis of gene expression in human articular cartilage from normal and osteoarthritic joints. *Osteoarthritis Cartilage* 2000;9:112–8.
 40. Kempson G.E., Muir H., Pollard C. et al. The tensile properties of the cartilage of human femoral condyles related to the content of collagen and glycosaminoglycans. *Biochim Biophys Acta* 1973;297:465–72.
 41. Anderson H.C., Hodges P.T., Aguilera X.M. et al. Bone morphogenetic protein (BMP) localization in developing human and rat growth plate, metaphysis, epiphysis, and articular cartilage. *J Histochem Cytochem* 2000;48:1493–502.
 42. Yamane S., Cheng E., You Z. et al. Gene expression profiling of mouse articular and growth plate cartilage. *Tissue Engineering* 2007;13:2163–73.
 43. Pfander D., Swoboda B., Kirsch T. Expression of early and late differentiation markers (proliferating cell nuclear antigen, syndecan-3, annexin VI, and alkaline phosphatase) by human osteoarthritic chondrocytes. *Am J Pathol* 2001;159:1777–83.
 44. Wu W., Billingham R.C., Pidoux I. et al. Sites of collagenase cleavage and denaturation of type II collagen in articular cartilage in ageing and osteoarthritis and their relationship to the distribution of the collagenases MMP-1 and MMP-13. *Arthr Rheum* 2002;46:2087–94.
 45. Kinkel M.D., Yagi R., McBurney D. et al. Age-related expression patterns of Bag-1 and Bcl-2 in growth plate and articular chondrocytes. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol* 2004;279:720–8.
 46. Wezeman F.H., Bollnow M.R. Immunohistochemical localization of fibroblast growth factor-2 in normal and brachymorphic mouse tibial growth plate and articular cartilage. *Histochem J* 1997;29:505–14.
 47. Quintavalla J., Kumar C., Daouti S. et al. Chondrocyte cluster formation in agarose cultures as a functional assay to identify genes expressed in osteoarthritis. *J Cell Physiol* 2005;204:560–6.
 48. Maroudas A., Bayliss M.T., Venn M.F. Further studies on the composition of human femoral head cartilage. *Ann Rheum Dis* 1980;39:514–23.
 49. Semevolos S.A., Strassheim M.L., Haupt J.L. et al. Expression patterns of hedgehog signaling peptides in naturally acquired equine osteochondrosis. *J Orthop Res* 2005;23:1152–9.
 50. Aigner T., Hemmel M., Neureiter D. et al. Apoptotic cell death is not a widespread phenomenon in normal aging and osteoarthritis human articular knee cartilage: a study of proliferation, programmed cell death (apoptosis), and viability of chondrocytes in normal and osteoarthritic human knee cartilage. *Art Rheum* 2001;44:1304–12.
 51. Kuhn K., D'Lima D.D., Hashimoto S., Lotz M. Cell death in cartilage. *Osteoarthritis Cartilage* 2004;12:1–16.
 52. Kember N.F. Cell division in endochondral ossification: a study of cell proliferation in rat bones by the method of tritiated thymidine autoradiography. *J Bone Joint Surg Br* 1960;42:824–39.
 53. Buckwalter J.A., Mower D., Ungar R. et al. Morphometric analysis of chondrocyte hypertrophy. *J Bone Joint Surg Am* 1986;68:243–55.
 54. Hunziker E.B., Schenk R.K., Cruz-Orive L.M. Quantitation of chondrocyte performance in growth plate cartilage during longitudinal bone growth. *J Bone Joint Surg Am* 1987;69:162–73.
 55. Mwale F., Tchetina E., Wu W. et al. The assembly and remodeling of the extracellular matrix in the growth plate in relationship to mineral deposition and cellular hypertrophy: An in situ study of collagens II and IV and proteoglycan. *J Bone Miner Res* 2002;17:275–83.
 56. Alini M., Matsui Y., Dodge G.R. et al. The extracellular matrix of cartilage on the growth plate before and during calcification: Changes in composition and degradation of type II collagen. *Calcif Tissue Int* 1992;50:327–35.
 57. Mwale F., Billingham R.C., Wu W. et al. The assembly and degradation of types II and IX collagens associated with expression of the hypertrophic phenotype. *Dev Dyn* 2000;218:648–62.
 58. Glimcher M.J. The nature of the mineral component of bone and the mechanism of calcification. In: Coe F.L., Favus M.J. (eds). *Disorders of Bone Mineral Metabolism*. New York: Raven Press, Ltd., 1992;265–86.
 59. Lee E.R., Smith C.E., Poole A.R. Ultrastructural localization of the C-propeptide released from type II procollagen in fetal bovine growth plate cartilage. *J Histochem Cytochem* 1996;44:433–43.
 60. Schenk R.K., Wiener J., Spiro D. Fine structural aspects of vascular invasion of the tibial epiphyseal plate of growing rats. *Acta Anat* 1968;69:1–17.
 61. Sandberg M., Vuorio E. Localization of types I, II and III collagen mRNAs in developing human skeletal tissue by in situ hybridization. *J Cell Biol* 1987;104:1077–84.
 62. Tchetina E.V., Mwale F., Poole A.R. Distinct phases of coordinated early and late gene expression in growth plate chondrocytes in relationship to cell proliferation, matrix assembly, remodelling, and cell differentiation. *J Bone Miner Res* 2003;18:844–51.
 63. Lee E.R., Matsui Y., Poole A.R. Immunohistochemical and immunocytochemical studies of the c-propeptide of type II procollagen in chondrocytes of the growth plate. *J Histochem Cytochem* 1990;38:659–73.
 64. Alvarez J., Balbin M., Santos F. et al. Different bone growth rates are associated with changes in the expression pattern of types II and X collagens and collagenase 3 in proximal growth plates of the rat tibia. *J Bone Miner Res* 2000;15:82–94.
 65. Stocum D.L., Davis R.M., Leger M. et al. Development of the tibiotarsus in the chick embryo: biosynthetic activities of histologically distinct regions. *J Embryol Exp Morphol* 1979;54:155–70.
 66. Howell D.S., Dean D.D., Muniz O.E. et al. Hypertrophic cell zone growth cartilage contains heparin-binding growth factors. *Trans Orthop Res Soc* 1989;14:525–31.
 67. Urist M.R., Nakagawa M., Nakata N. et al. Experimental myositis ossifications. Cartilage and bone formation in muscle in response to a diffusible bone matrix-derived morphogen. *Arch Pathol Lab Med* 1978;102:312–6.
 68. Damron T.A., Mathur S., Horton J.A. et al. Temporal changes in PTHrP, Bcl-2, Bax, caspase, TGF-beta, and FGF-2 expression following growth plate irradiation with or without radioprotectant. *J Histochem Cytochem* 2004;52:157–67.
 69. Nilsson O., Parker E.A., Hegde A. et al. Gradients in bone morphogenetic protein-related gene expression across the growth plate. *J Endocrinol* 2007;193:75–84.
 70. Verdier M.-P., Seite S., Guntzer K. et al. Immunohistochemical analysis of transforming growth factor beta isoforms and their receptors in human cartilage from normal and osteoarthritic femoral heads. *Rheumatol Int* 2005;25:118–24.
 71. Roach H.I., Mehta G., Oreffo R.O. et al. Temporal analysis of rat growth plates: cessation of growth with age despite presence of a physis. *J Histochem Cytochem* 2003;51:373–83.
 72. Neuhold L.A., Killar L., Zhao W. et al. Postnatal expression in hyaline cartilage of constitutively active human collagenase-3 (MMP-13) induces osteoarthritis in mice. *J Clin Invest* 2001;107:35–44.
 73. Armstrong C.G., Mow V.C. Variations in the intrinsic mechanical properties of human articular cartilage with age, degeneration and water content. *J Bone Joint Surg Am* 1982;64:88–94.
 74. Horner A., Kemp P., Summers C. et al. Expression and distribution of transforming growth factor-β isoforms and their signalling receptors in growing human bone. *Bone* 1998;23:95–102.
 75. Wang W., Kirsch T. Annexin V/β5 integrin interactions regulate apoptosis of growth plate chondrocytes. *J Biol Chem* 2006;281:30848–56.
 76. Ma Q., Li X., Vale-Cruz D. et al. Activating transcription factor 2 controls Bcl-2 promoter activity in growth plate chondrocytes. *J Cell Biochem* 2007;101:477–87.
 77. Akiyama H., Chaboissier M.C., Martin J.F. et al. The transcription factor Sox9 has essential roles in successive steps of the chondrocyte differentiation pathway and is

- required for expression of Sox5 and Sox6. *Genes Dev* 2002;16:2813–28.
78. Vu T.H., Shipley J.M., Bergers G. et al. MMP-9/gelatinase B is a key regulator of growth plate angiogenesis and apoptosis of hypertrophic chondrocytes. *Cell* 1998;93:411–22.
79. Borden P., Solymer D., Sucharczuk A. et al. Cytokine control of interstitial collagenase and collagenase-3 gene expression in human chondrocytes. *J Biol Chem* 1996;271:23577–81.
80. Haessler G., Walter I., Heimreich M. et al. Localization of matrix metalloproteinases (MMPs), their tissue inhibitors, and vascular endothelial growth factor (VEGF) in growth plates of children and adolescents indicates a role for MMPs in human postnatal growth and skeleton maturation. *Calcif Tissue Int* 2005;7:326–35.
81. Li C., Chen L., Iwata T. et al. A Lys644Glu substitution in fibroblast growth factor receptor 3 (FGFR3) causes dwarfism in mice by activation of STATs and ink4 cell cycle inhibitors. *Hum Mol Genet* 1999;8:35–44.
82. Wang Y., Middleton F., Horton J.A. et al. Microarray analysis of proliferative and hypertrophic growth plate zones identifies differentiation markers and signal pathways. *Bone* 2004;35:1273–93.
83. Fukunaga T., Yamashiro T., Oya S. et al. Connective tissue growth factor mRNA expression pattern in cartilages is associated with their type I collagen expression. *Bone* 2003;33:911–8.
84. Kindblom J.M., Nilsson O., Hurme T. et al. Expression and localization of Indian hedgehog (Ihh) and parathyroid hormone related protein (PTHrP) in the human growth plate during pubertal development. *J Endocrinol* 2002;174:R1–R6.
85. Yamashita F., Sakakida K., Kusuzaki K. et al. Immunohistochemical localization of interleukin 1 in human growth cartilage. *Nippon Seikeigeka Gakkai Zasshi* 1989;63:562–8.
86. Ducy P., Zhang R., Geoffroy V. et al. *Osf2/Cbfa1*: A transcriptional activator of osteoblast differentiation. *Cell* 1997;80:371–8.
87. Takeda S., Bonnamy J.P., Owen M.J. et al. Continuous expression of *Cbfa1* in non-hypertrophic chondrocytes uncovers its ability to induce hypertrophic chondrocyte differentiation and partially rescues *Cbfa1*-deficient mice. *Genes Dev* 2001;15:467–81.
88. Jimenez M.J.G., Balbin M., Lopez J.M. et al. Collagenase-3 is a target of *Cbfa1*, a transcription factor of the runt gene family involved in bone formation. *Mol Cell Biol* 1999;19:4431–42.
89. Wang W., Xu J., Du B., Kirsch T. Role of the progressive ankylosis gene (*ank*) in cartilage mineralization. *Mol Cell Biol* 2005;25:312–23.
90. Wang J., Elefant D., Veys E.M. et al. Insulin-like growth factor-1 rides the activity of interleukin-1 receptor II over and controls the homeostasis of the extracellular matrix of cartilage. *Arthr Rheum* 2003;48:1281–91.
91. Wang W., Xu J., Kirsch T. Annexin V and terminal differentiation of growth plate chondrocytes. *Exp Cell Res* 2005;305:156–65.
92. Shapiro I.M., Adams C.S., Freeman T. et al. Fate of the hypertrophic chondrocyte: microenvironmental perspectives on apoptosis and survival in the epiphyseal growth plate. *Birth Defects Res C Embryo Today* 2005;75:330–9.
93. Cheung W.H., Lee K.M., Fung K.P. et al. TGF-beta1 is the factor secreted by proliferative chondrocytes to inhibit neo-angiogenesis. *J Cell Biochem* 2001 (Suppl. 36):79–88.
94. Dong Y., Drissi H., Chen M. et al. Wnt-mediated regulation of chondrocyte maturation: modulation by TGF-beta. *J Cell Biochem* 2005;95:1057–68.
95. Kato Y., Iwamoto M. Fibroblast growth factor is an inhibitor of terminal differentiation. *J Biol Chem* 1990;110:1417–26.
96. Li T.F., Dong Y., Ionescu A.M. et al. Parathyroid hormone-related peptide (PTHrP) inhibits Runx2 expression through the PKA signaling pathway. *Exp Cell Res* 2004;299:128–36.
97. Yoshida E., Noshiro M., Kawamoto T. et al. Direct inhibition of Indian hedgehog expression by parathyroid hormone (PTH)/PTH-related peptide and up-regulation by retinoic acid in growth plate chondrocyte cultures. *Exp Cell Res* 2001;265:64–72.
98. Pacifici M., Shimo T., Gentili C. et al. Syndecan-3: a cell-surface heparan sulfate proteoglycan important for chondrocyte proliferation and function during limb skeletogenesis. *J Bone Miner Metab* 2005;23:191–9.
99. Yang X., Chen L., Xu X. et al. TGF-beta2/Smad signals repress chondrocyte hypertrophic differentiation and are required for maintaining articular cartilage. *J Cell Biol* 2001;153:35–46.
100. Serra R., Karaplis A., Sohn P. Parathyroid hormone-related peptide (PTHrP)-dependent and -independent effects of transforming growth factor beta (TGF-beta) on endochondral bone formation. *J Cell Biol* 1999;145:783–94.
101. Bohme K., Winterhalter K.H., Bruckner P. Terminal differentiation of chondrocytes is a spontaneous process and is arrested by transforming growth factor-beta-2 and basic fibroblast growth factor in synergy. *Exp Cell Res* 1995;216:191–8.
102. Szuts V., Mollers U., Bittner K. et al. Terminal differentiation of chondrocytes is arrested at distinct stages identified by their expression repertoire of marker genes. *Matrix Biol* 1998;17:435–48.
103. Zhang D., Schwarz E.M., Rosier R.N. et al. ALK2 functions as a BMP type I receptor and induces Indian hedgehog in chondrocytes during skeletal development. *J Bone Miner Res* 2003;18:1593–604.
104. Mailhot G., Yang M., Mason-Savas A. et al. BMP-5 expression increases during chondrocyte differentiation in vivo and in vitro and promotes proliferation and cartilage matrix synthesis in primary chondrocyte cultures. *J Cell Physiol* 2008;214:56–64.
105. Takahashi T., Morris E.A., Trippel S.B. Bone morphogenetic protein-2 and 9 regulate the interaction of insulin-like growth factor-1 with growth plate chondrocytes. *Int J Mol Med* 2007;20:53–7.
106. Loesser R.F., Shanker G., Carlson C.S. et al. Reduction in the chondrocyte response to insulin-like growth factor 1 in ageing and osteoarthritis. Studies in a non-human primate mode of naturally occurring disease. *Arthr Rheum* 2000;43:2110–20.
107. Trippel S.B. Growth factor inhibition. Potential role in the etiopathogenesis of osteoarthritis. *Clin Orthop Rel Res* 2004;427:S47–S52.
108. Hui W., Rowan A.D., Cawston T.E. Transforming growth factor beta1 blocks the release of collagen fragments from bovine nasal cartilage stimulated by oncostatin M in combination with interleukin-1. *Cytokine* 2000;12:765–9.
109. Bi W., Huang W., Whitworth D.J. et al. Haploinsufficiency of Sox9 results in defective cartilage primordia and premature skeletal mineralization. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:6698–703.
110. de Crombrughe B., Lefebvre V., Behringer R.R. et al. Transcriptional mechanisms of chondrocyte differentiation. *Matrix Biol* 2000;19:389–94.
111. Chen Q., Johnson D.M., Haudenschild D.R. et al. Progression and recapitulation of the chondrocyte differentiation program: cartilage matrix protein is a marker for cartilage maturation. *Dev Biol* 1995;172:293–306.
112. Nagai H., Aoki M. Inhibition of growth plate angiogenesis and endochondral ossification with diminished expression of MMP-13 in hypertrophic chondrocytes in FGF-2-treated rats. *J Bone Miner Metab* 2002;20:142–7.
113. Wu W., Tchétina E., Mwale F. et al. Proteolysis involving MMP-13 (collagenase-3) and the expression of the chondrocyte hypertrophic phenotype. *J Bone Miner Res* 2002;17:639–51.
114. Четина Е.В., Пул А.Р., ДиБатиста Д. Роль простагландина Е2 в ингибировании разрушения коллагена суставного хряща больных остеоартрозом. *Научно-практический ревматолог* 2009;3:18–23.
115. Tchétina E.V., Di Battista J.A., Zukor D.J. et al. Prostaglandin PGE2 at very low concentrations suppresses collagen cleavage in cultured human osteoarthritic articular cartilage: this involves a decrease in expression of proinflammatory genes, collagenases and COL10A1, a gene linked to chondrocyte hypertrophy. *Arthr Res Ther* 2007;9:R75.
116. Brochhausen C., Neuland P., Kirkpatrick C.J. et al. Cyclooxygenases and prostaglandin E2 receptors in growth plate chondrocytes in vitro and in situ—prostaglandin E2 dependent proliferation of growth plate chondrocytes. *Arthr Res Ther* 2006;8:R78.
117. Martin J.A., Buckwalter J.A. Telomere erosion and senescence in human articular

- cartilage chondrocytes. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2001;56:172—9.
118. Verzijl N., DeGroot J., Bank R.A. et al. Age-related accumulation of the advanced glycation end product pentosidine in human articular cartilage aggrecan: the use of pentosidine levels as a quantitative measure of protein turnover. *Martix Biol* 2001;20:409—17.
119. Verzijl N., DeGroot J., Ben Z.C. et al. Crosslinking by advanced glycation end products increases the stiffness of the collagen network in human articular cartilage: a possible mechanism through which age is a risk factor for osteoarthritis. *Arthr Rheum* 2002;46:114—23.
120. DeGroot J., Verzijl N., Wentig van Wijk M.J.G. et al. Age-related decrease in susceptibility of human articular cartilage to matrix metalloproteinase-mediated degradation. The role of advanced glycation end products. *Arthr Rheum* 2002;44:2562—71.
121. Roughley P.J., White R.J., Poole A.R. Identification of a hyaluronic acid-binding protein that interferes with the preparation of high buoyant density proteoglycan aggregates from adult human articular cartilage. *Biochem J* 1985;231:129—38.
122. Franzen A., Inerot S., Hejderup S.-O. et al. Variations in the composition of bovine hip articular cartilage with distance from the articular surface. *Biochem J* 1981;195:535—43.
123. Maroudas A., Bayliss M.T., Uchitel-Kaushansky N. et al. Aggrecan turnover in human articular cartilage: use of aspartic acid racemization as a marker of molecular age. *Arch Biochem Biophys* 1998;350:61—71.
124. Клионер М.Л. Старческие и дегенеративные изменения в суставах и позвоночнике. М., 1962;151 с.
125. Омеляненко Н.П., Семенова Л.А. Возрастная динамика пограничных слоев суставного хряща человека. *Морфология* 2004;4:96.
126. Dodge G.R., Poole A.R. Immunohistochemical detection and immunochemical analysis of type II collagen degradation in human normal rheumatoid and osteoarthritic articular cartilage and in explants of bovine articular cartilage with interleukin 1. *J Clin Invest* 1989;83:647—61.
127. Hollander A.P., Pidoux I., Reiner A. et al. Damage to type II collagen in ageing and osteoarthritis: starts at the articular surface, originate around chondrocytes and extends into the cartilage with progressive degeneration. *J Clin Invest* 1995;96:2859—69.
128. Venn M.F. Variation of chemical composition with age in human femoral head cartilage. *Ann Rheum Dis* 1978;37:168—4.
129. Guilak F., Ratcliffe A., Lane N. et al. Mechanical and biochemical changes in the superficial zone of articular cartilage in canine experimental osteoarthritis. *J Orthop Res* 1994;12:474—84.
130. Wright M.O., Nishida K., Bavington C. et al. Hyperpolarization of cultured human chondrocytes follows cyclical pressure-induced strain: evidence of a role for $\alpha 5 \beta 1$ integrin as a chondrocyte mechanoreceptor. *J Orthop Res* 1997;15:742—7.
131. Billingham R.C., Dahlberg L., Ionescu M. et al. Enhanced cleavage of type II collagen by collagenases in osteoarthritic articular cartilage. *J Clin Invest* 1997;99:1534—45.
132. Tchetina E.V., Kobayashi M., Yasuda T. et al. Chondrocyte hypertrophy can be induced by a cryptic sequence of type II collagen and is accompanied by the induction of MMP-13 and collagenase activity: Implications for development and arthritis. *Matrix Biol* 2007;26:247—58.
133. Ким Зон Чхол, Быков В.А., Николаева С.С. и др. Изменения биохимических характеристик коллагена и состояния воды хряща при остеоартрозе. *Вопр мед химии* 2001;47(5):498—505.
134. Tiku M.L., Liesch J.B., Robertson F.M. Production of hydrogen peroxide by rabbit articular chondrocytes: enhancement by cytokines. *J Immunol* 1990;145:690—6.
135. Cawston T.E., Ellis A.J., Lean E. et al. Interleukin-1 and oncostatin M in combination promote the release of collagen fragments from bovine nasal cartilage in culture. *Biochem Biophys Res Commun* 1995;215:377—85.
136. Poole A.R., Nelson F., Tchetina E. et al. Proteolysis of the collagen fibril in osteoarthritis. *Biochem Soc Symp* 2003;70:115—23.
137. Milner J.M., Elliot S.-F., Cawston T.E. Activation of procollagenases is a key control point in cartilage collagen degradation. Interaction of serine and metalloproteinase pathways. *Arthr Rheum* 2001;44:2084—96.
138. Sztrolovics R., White R.J., Poole A.R. et al. Resistance of small leucine rich repeat proteoglycans to proteolytic during interleukin-1 stimulated cartilage. *Biochem J* 1999;339:571—7.
139. Cheung H.S., Ryan L.M., Kozin F. et al. Identification of collagen subtypes in synovial fluid sediments from arthritic patients. *Am J Med* 1980;68:73—9.
140. Witter J., Roughley P.J., Webber C. et al. The immunological detection and characterization of cartilage proteoglycan degradation products in synovial fluids of patients with arthritis. *Arthr Rheum* 1987;30:519—26.
141. Sandel L.J., Aigner T. Articular cartilage and changes in arthritis. An introduction: cell biology of osteoarthritis. *Arthr Res* 2001;3:107—13.
142. Yamada H., Nakagawa T., Stephens R.W. et al. Proteinases and their inhibitors in normal and osteoarthritic articular cartilage. *Biomed Res* 1987;8:289—300.
143. Malfait A.-M., Liu R.-Q., Ijiri K. et al. Inhibition of ADAM-TS4 and ADAM-TS5 prevents aggrecan degradation in osteoarthritic cartilage. *J Biol Chem* 2002;277:22201—8.
144. Миронов С.П., Омеляненко Н.П., Шерепо К.М. и др. Морфология тканевых компонентов тазобедренного сустава у экспериментальных животных при моделировании остеоартроза. *Вестн травматол ортопед* 2006;1:57—63.
145. Раденска-Лоповок С.Г. Остеоартроз: возможности морфологической диагностики. *Клин геронтол* 2004;10:46—7.
146. Squires G., Okouneff S., Ionescu M. et al. Pathobiology of focal lesion development in aging human articular cartilage reveals molecular matrix changes characteristic of osteoarthritis. *Arthr Rheum* 2003;48:1261—70.
147. Akizuki S., Mow V.C., Muller F. et al. Tensile properties of human knee joint cartilage. I. Influence of ionic conditions, weight-bearing and fibrillation on the tensile modulus. *J Orthop Res* 1986;4:379—92.
148. Bank R.A., Soudry M., Maroudas A. et al. The increased swelling and instantaneous deformation of osteoarthritic cartilage is highly correlated with collagen degradation. *Arthr Rheum* 2000;43:2202—10.
149. Price J.S., Bickerstaff D.R., Bayliss M.T. et al. Degradation of cartilage type II collagen precedes the onset of osteoarthritis following anterior cruciate ligament rupture. *Arthr Rheum* 1999;42:2390—8.
150. Stoop R., van der Kraan P.M., Buma P. et al. Type II collagen degradation in spontaneous osteoarthritis in C57/B1/6 and BALB/c mice. *Arthr Rheum* 1999;42:2381—9.
151. Dahlberg L., Billingham R.C., Manner P. et al. Selective enhancement of collagenase-mediated cleavage of resident type II collagen in cultured osteoarthritic cartilage and arrest with a synthetic inhibitor that's spores collagenase (matrix metalloproteinase). *Arthr Rheum* 2000;43:673—82.
152. Melchiorri C., Meliconi R., Frizzitro L. et al. Enhanced and coordinated in vivo expression of inflammatory cytokines and nitric oxide synthase by chondrocytes from patients with osteoarthritis. *Arthr Rheum* 1998;41:2165—74.
153. Pickvance E.A., Oegema J.-R., Thompson R.C. Immunolocalization of selected cytokines and proteases in canine articular cartilage transarticular loading. *J Orthop Res* 1993;11:313—23.
154. Barakat A.F., Elson C.J., Westacott C.I. Susceptibility to physiological concentrations of IL-1 β varies in cartilage at different anatomical locations on human osteoarthritic knee joints. *Osteoarthritis Cartilage* 2002;10:264—9.
155. Matsumoto T., Tsukazaki T., Enomoto H. et al. Effects of interleukin-1 β on insulin-like growth factor-1 autocrine/paracrine axis in culture rat articular chondrocytes. *Ann Rheum Dis* 1994;53:128—33.
156. Morales T.I. The insulin growth factor binding proteins in uncultured human cartilage. Increases in insulin-like growth factor binding proteins during osteoarthritis. *Arthr Rheum* 2001;44:578—84.
157. Dore S., Pelletier J.-P., DiBattista J.A. et al. Human osteoarthritic chondrocytes possess an increased number of insulin-like growth factor binding sites but are unresponsive to its stimulation: possible role of IGF-1 binding proteins. *Arthr Rheum* 1994;37:253—63.
158. Attur M.G., Dave M.N., Stuchin S. et al.

- Osteopontin: an intrinsic inhibitor in cartilage. *Arthr Rheum* 2001;44:578–84.
159. Johnson K., Goding J., van Etten D. et al. Linked deficiencies in extracellular PPI and osteopontin mediate pathologic calcification associated with defective PC-1 and ANK expression. *J Bone Miner Res* 2003;18:994–1004.
160. Fenwick S.A., Gregg P.J., Rooney P. Osteoarthritic cartilage loses its ability to remain avascular. *Osteoarthritis Cartilage* 1999;7:441–52.
161. Aigner T., Gerwin N. Growth plate cartilage as developmental model in osteoarthritis research-potentials and limitations. *Curr Drug Targets* 2007;8:377–85.
162. Von der Mark K., Kirsch T., Nerlich A. et al. Type X collagen synthesis in human osteoarthritic cartilage-indication of chondrocyte hypertrophy. *Arthr Rheum* 1992;35:806–11.
163. Kirsch T., Swoboda B., Nah H. Activation of annexin II and V expression, terminal differentiation, mineralization and apoptosis in human osteoarthritic cartilage. *Osteoarthritis Cartilage* 2000;8:294–302.
164. Hashimoto H., Ochs R.L., Komiya S. et al. Linkage of chondrocyte apoptosis and cartilage degradation in human osteoarthritis. *Arthr Rheum* 1998;41:1632–8.
165. Ohira T., Ishikawa K. Hydroxyapatite deposition in osteoarthritic articular cartilage of the proximal femoral head. *Arthr Rheum* 1987;30:651–60.
166. Kim H.A., Song Y.W. Apoptotic chondrocyte death in rheumatoid arthritis. *Arthr Rheum* 1999;42:1528–37.
167. Омеляненко Н.П., Селезнев Н.В., Семенова Л.А. Формирование гиалиновой хрящевой ткани на поврежденных суставных концах сочленяющихся костей при пассивных движениях в суставе. *Морфология* 2004;4:95.
168. Bernstein B., Forrester D., Singsen B. et al. Hip Joint restoration in juvenile rheumatoid arthritis. *Arthr Rheum* 1977;20:1099–104.
169. Garcia-Moteo O., Babini J.C., Maldonado-Cocco J.A. et al. Remodelling of the hip joint in juvenile rheumatoid arthritis. *Arthr Rheum* 1981;24:1570–4.
170. Четина Е.В., Пул А.Р. Роль ростовых факторов в подавлении разрушения коллагена и дифференциации хондроцитов при остеоартрозе. *Вестн РАМН* 2008;9:40–9.
171. Tchetina E.V., Antoniou J., Tanzer M. et al. Transforming growth factor- β 2 suppresses collagen cleavage in cultured human osteoarthritic cartilage, reduces expression of genes associated with chondrocyte hypertrophy and degradation, and increases prostaglandin E2 production. *Am J Pathol* 2006;168:131–40.
172. Jiang J., Leong N.L., Mung J.C. et al. Interaction between zonal populations of articular chondrocytes suppresses chondrocyte mineralization and this process is mediated by PTHrP. *Osteoarthritis Cartilage* 2008;16:70–82.
173. Zhang X., Ziran N., Goater J.J. et al. Primary murine limb bud mesenchymal cells in long-term culture complete chondrocyte differentiation: TGF- β delays hypertrophy and PGE2 inhibits terminal differentiation. *Bone* 2004;34:809–17.
174. Kamekura S., Kawasaki Y., Hoshi K. et al. Contribution of runt-related transcription factor 2 to the pathogenesis of osteoarthritis in mice after induction of knee joint instability. *Arthr Rheum* 2006;54:2462–70.
175. Klatt A.R., Klinger G., Neumüller O. et al. TAK1 downregulation reduces IL-1 β induced expression of MMP13, MMP1 and TNF- α . *Biomed Pharmacother* 2006;60:55–61.
176. Yamamoto T., Wakitani S., Imoto K. et al. Fibroblast growth factor-2 promotes the repair of partial thickness defects of articular cartilage in immature rabbits but not in mature rabbits. *Osteoarthritis Cartilage* 2004;12:636–41.
177. Elford P.R., Graeber M., Ohtsu H. et al. Induction of swelling, synovial hyperplasia and cartilage proteoglycan loss upon intra-articular injection of transforming growth factor- β 2 in the rabbit. *Cytokine* 1992;4:232–8.
178. Shida J.-I., Jingushi S., Izumi T. et al. Basic fibroblast growth factor regulates expression of growth factors in rat epiphyseal chondrocytes. *J Orthop Res* 2001;19:259–64.
179. Blaney Davidson E.N., Vitters E.L., van den Berg W.B. et al. TGF beta-induced cartilage repair is maintained but fibrosis is blocked in the presence of Smad7. *Arthr Res Ther* 2006;8:R65.
180. Goldring S.R., Goldring M.B. The role of cytokines in cartilage matrix degeneration in osteoarthritis. *Clin Orthopaed* 2004;427(Suppl.):27–36.
181. Benito M.J., Veale D.J., FitzGerald O. et al. Synovial tissue inflammation in early and late osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 2005;64:1263–7.
182. Goldring M.B. Update on the biology of the chondrocyte and new approaches to treating cartilage diseases. *Best Practice Res. Clin Rheumatol* 2006;20:1003–25.
183. Evans S.H. Novel biological approaches to the intra-articular treatment of osteoarthritis. *BioDrugs* 2005;19:355–62.
184. Fernandes J.C., Martel-Pelletier J., Pelletier J.P. The role of cytokines in osteoarthritis pathophysiology. *Biorheology* 2002;39:237–46.
185. Четина Е.В., Пул А.Р. Способность фрагмента коллагена 2 типа индуцировать расщепление коллагена и гипертрофию суставных хондроцитов. *Вестн РАМН* 2008;5:15–21.
186. Cecil D.L., Appleton C.T., Polewski M.D. et al. The pattern recognition receptor CD36 is a chondrocyte hypertrophy marker associated with suppression of catabolic responses and promotion of repair responses to inflammatory stimuli. *J Immunol* 2009;182:5024–31.
187. Borzi R.M., Mazetti I., Marcu K.B. et al. Chemokines in cartilage degradation. *Clin Orthopaed Rel Res* 2004;427(Suppl.):S53–S61.
188. Lubberts E., Koenders M.I., van den Berg W.B. The role of T cell interleukin-17 in conducting destructive arthritis: lessons from animal models. *Arthr Res Ther* 2005;7:29–37.
189. Scanzello C.R., Umoh E., Pessler F. et al. Local cytokine profiles in knee osteoarthritis: elevated synovial fluid interleukin-15 differentiates early from end-stage disease. *Osteoarthritis Cartilage* 2009;17:1040–8.
190. Barksby H.E., Hui W., Wappler I. et al. Interleukin-1 in combination with oncostatin M up-regulates multiple genes in chondrocytes: implications for cartilage destruction and repair. *Arthr Rheum* 2006;54:540–50.
191. Toncheva A., Remichkova M., Ikononova K. et al. Inflammatory response in patients with active and inactive osteoarthritis. *Rheum Int* 2009;29:1197–203.
192. Hussein M.R., Fathi N.A., El-Din A.M. et al. Alterations of the CD4(+), CD8(+) T cell subsets, interleukins-1 β , IL-10, IL-17, tumor necrosis factor- α and soluble intercellular adhesion molecule-1 in rheumatoid arthritis and osteoarthritis: preliminary observations. *Pathol Oncol Res* 2008;14:321–8.
193. Маколкин В.И., Пак Ю.В., Меньшикова И.В. Коксартроз: этиология, эпидемиология, клинические проявления и новые подходы к терапии. *Тер арх* 2007;79:81–5.
194. Ijiri K., Zerbini L.F., Peng H. et al. A novel role for GADD45 β as a mediator of MMP-13 gene expression during chondrocyte terminal differentiation. *J Biol Chem* 2005;280:38544–55.
195. Karpousas G.A., Terkeltaub R.A. New developments in the pathogenesis of articular cartilage calcification. *Curr Rheumatol Reps* 1999;1:212–7.
196. Poole A.R., Webber C., Pidoux I. et al. Localization of a dermatan sulphate proteoglycan in cartilage and the presence of an immunologically related species in other tissues. *J Histochem Cytochem* 1986;34:619–25.
197. Terec T.M., Klein L. Hypophosphatasia, clinical and metabolic studies. *J Pediatr* 1986;72:50–7.
198. Tchetina E.V., Squires G., Poole A.R. Increased type II collagen degradation and very early focal cartilage degeneration is associated with the upregulation of chondrocyte differentiation related genes in early human articular cartilage lesions. *J Rheumatol* 2005;32:876–86.