

УДК 616.72:616.711-007.17:611.018.4

ГУЖЕВСЬКИЙ І.В., ГЕРАСИМЕНКО С.І., ПАНЧЕНКО Л.М., МАГОМЕДОВ О.М.
ДУ «Інститут травматології та ортопедії АМН України», м. Київ

ОСТЕОГЕННА АКТИВНІСТЬ СТОВБУРОВИХ СТРОМАЛЬНИХ КЛІТИН КІСТКОВОГО МОЗКУ В ДОРΟΣЛИХ ПРИ ОСТЕОАРТРОЗІ НА ҐРУНТІ СПОНДИЛОЕПІФІЗАРНОЇ ДИСПЛАЗІЇ

Резюме. Досліджено зразки спонгіозної кісткової тканини голівки стегнової кістки 13 хворих віком від 28 до 61 року з коксартрозом 3–4-ї стадії (за класифікацією J.H. Kellgren, J.S. Lawrence, 1957), що виник на ґрунті спондилоепіфізарної дисплазії. Установлено значне підвищення регенераторного потенціалу клітин-попередників кісткового мозку в ділянці уражених патологічним процесом суглобів, що дозволяє очікувати позитивних віддалених результатів при застосуванні хірургічних методів лікування, пов'язаних з імплантацією аlogenних матеріалів у ділянку суглобів.

Ключові слова: остеогенна активність, остеоартроз, спондилоепіфізарна дисплазія.

Вступ

Остеоартроз (ОА) — найбільш поширене захворювання суглобів, поширеність якого неухильно зростає [1, 2, 7, 8]. Відповідно до сучасної дефініції, ОА є групою захворювань суглобів різної етіології, але з однаковим кінцевим результатом — утратою суглобового хряща та супутнім ураженням субхондральної кістки, синовіальної оболонки, капсули, періартикулярних тканин [7]. У більшості публікацій ОА поділяють на первинний (ідеопатичний) та вторинний (із виявленими етіологічними факторами) [7, 18]. Вважають, що генетичні чинники мають найбільше значення як фактори ризику первинного ОА, і серед них одне з перших місць посідають прояви спадкової патології гену колагену II типу [13, 14, 17–19], до яких належить спондилоепіфізарна дисплазія (СЕД) [12, 13, 16].

Незважаючи на успіхи у вивченні патогенезу ОА, на сьогодні серед дослідників не існує одностайної думки щодо стану регенераторно-компенсаційних процесів у різних тканинах ділянки суглоба [2, 7, 18]. Зокрема, достатньо не вивчені процеси перебудови кісткової тканини в субхондральних відділах кісток при ОА різної етіології, що залежать від активності остеобластів і безпосередньо впливають на результати хірургічних втручань [3, 6, 9]. Джерелом поповнення остеобластів є остеогенні клітини-попередники кісткового мозку або стовбурові стромальні клітини, властивості яких вивчають методом клонування *in vitro*. У культурах остеогенні клітини-попередники утворюють колонії, звідси походить їх назва — колонієутворюючі одиниці фібробластів (КУОф) [3, 6]. Існують дані про КУОф кісткового мозку різних ділянок скелета людини при деяких ортопедичних захворюваннях [3, 9], але відомостей про показники регенераторного потенціалу кісткової тканини у хворих з ОА, що виникає на ґрунті СЕД, та практичне застосування отриманих результатів із діагностичною та прогностичною метою у доступній нам літературі ми не знайшли.

Також недостатньо вивчені біохімічні маркери інтенсивності деградації хрящового матриксу, які в більшості публікацій оцінюються шляхом вимірювання рівнів відповідних метаболітів у крові та сечі, а не безпосередньо в нативному хрящі та синовіальній рідині, що знижує інформативність подібних досліджень [11].

Пов'язані з генетично запрограмованими порушеннями синтезу колагену II типу метаболічні, імунологічні та біомеханічні зміни обумовлюють особливості перебігу та характеру прогресування ОА при СЕД і вимагають особливої тактики лікування [4, 5, 10, 12]. На жаль, ліків від дисплазії сполучної тканини ще не існує, але, безумовно, реально при вивченні особливостей перебігу регенераторно-компенсаційних процесів у ділянці суглобів у хворих з ОА на ґрунті СЕД підвищити ефективність консервативного лікування та подовжити терміни позитивних результатів хірургічного лікування обраної групи хворих [4, 5, 11, 15, 18].

Матеріал і методи дослідження

Метою дослідження було одночасне вивчення показників остеогенної активності стовбурових стромальних клітин кісткового мозку в голівці стегнової кістки та локальних біохімічних показників деградації хрящового матриксу шляхом дослідження зразків спонгіозної тканини та суглобового хряща, отриманих при виконанні оперативних втручань у дорослих хворих із коксартрозом (КА) на тлі СЕД. Досліджено зразки спонгіозної кісткової тканини голівки стегнової кістки, суглобового хряща та синовіальної рідини від 13 хворих віком від 28 до 61 року з КА 3–4-ї стадії (за класифікацією J.H. Kellgren, J.S. Lawrence, 1957), що виник на ґрунті СЕД. Забір матеріалу для дослідження проводився у стерильних умовах під час операцій ендопротезування кульшового суглоба. Здобуті в процесі дослідження показники порівнювали з нормою та аналогічними показниками хворих із дис-

пластичним (на ґрунті локальної дисплазії суглоба) КА 3–4-ї ст. [3, 6, 9].

Клонування стовбурових стромальних клітин кісткового мозку проводили за методикою О.Я. Фріденштейна (1973) в модифікації В.С. Астахової (1982) при стандартних умовах протягом 14 діб без зміни культурального середовища у чашках Петрі, матеріал знаходився при 37 °С у газовій суміші з 5% умістом CO₂ в атмосферному повітрі з використанням летально опромінених клітин кісткового мозку кроля як фідера. Остеогенну активність стовбурових стромальних клітин кісткового мозку оцінювали за такими показниками: загальна кількість ядровмісних клітин та кількість стовбурових стромальних клітин (КУОф кісткового мозку) в 1 см³ та ефективність їх клонування серед 10⁵ ядровмісних клітин. Ефективність клонування КУОф кісткового мозку визначали за формулою:

$$EKУОф = K/N \times 10^5,$$

де K — кількість колоній, що вирости у чашці Петрі $\times 10^5$; N — кількість клітин, що посаджено у чашку Петрі.

Кількість КУОф в 1 см³ визначали за формулою:

$$\text{Кількість КУОф в } 1 \text{ см}^3 = K \times n / N \times V,$$

де K — кількість колоній, що вирости у чашці; n — кількість клітин, що вимито із зразка спонгіозної кістки; N — кількість клітин, що посаджено; V — об'єм зразка спонгіозної кістки.

З біохімічних способів дослідження використовували визначення глікозаміногліканів у хрящі карбазоловим методом С.А. Кляцкіна та Р.І. Ліфшиц, 1989. Уміст колагену визначали за методом А.А. Крель та Л.Н. Фурцевої, 1968, а визначення активності колагенази в синовіальній рідині — за S. Lindy та J. Halme, 1973.

Розрахунки проводили за кожним дослідом й у середньому в групі. Статистичну обробку отриманого матеріалу виконували за допомогою пакету програм Statistica. Середні величини подані як $M \pm m$, де M — середнє значення показника, m — стандартна похибка середнього.

Результати та їх обговорення

Вирощені 42 культури стромальних фібробластів кісткового мозку, значущі результати отримані в 12 випадках, а

в інших випадках отримали пророст культур грибами роду *Aspergillus fumigatus* і *Aspergillus niger* та іншою бактеріальною флорою. У наших попередніх дослідженнях [9] були вивчені показники регенераторного потенціалу спонгіозної кістки проксимального епіметафізу стегна в нормі та при КА на ґрунті локальної дисплазії кульшового суглоба. Саме ці показники були використані нами як показники контрольної групи та групи порівняння (табл. 1).

Як видно з табл. 1, ефективність клонування КУОф хворих із коксартрозом на ґрунті СЕД вірогідно вища за аналогічні показники здорових осіб та хворих із коксартрозом унаслідок локальної дисплазії кульшового суглоба. Цей факт може бути пояснений дією факторів, що стимулюють активність остеогенних клітин-попередників кісткового мозку у хворих із СЕД. Імовірно, причиною виникнення подібних стимулюючих агентів є більш інтенсивні процеси деградації хрящового матриксу при спадковій неповноцінності колагену II типу.

Біохімічні дослідження суглобового хряща та синовіальної рідини, отримані під час операцій, дозволили встановити низький уміст колагену та глікозаміногліканів у суглобовому хрящі та підвищення активності колагенази в синовіальній рідині (табл. 2), що підтверджує наявність виражених процесів деструкції основних складових хрящового матриксу.

Висновки

1. У хворих із пізніми стадіями коксартрозу, що виник на ґрунті СЕД, спостерігається значне підвищення регенераторного потенціалу клітин-попередників кісткового мозку в ділянці уражених патологічним процесом суглобів.

2. Імовірно, що фактори, які підвищують ефективність клонування колонієутворюючих одиниць фібробластів, пов'язані з дією продуктів інтенсивної деградації хрящового матриксу, що, у свою чергу, обумовлено спадковою неповноцінністю колагену II типу у хворих із СЕД.

3. Таким чином, при ОА на ґрунті СЕД не спостерігається виснаження регенераторного потенціалу кісткового мозку, що дозволяє очікувати тривалих позитивних результатів при застосуванні хірургічних методів лікування, пов'язаних з імплантацією алогенних матеріалів у ділянку суглобів.

Таблиця 1. Показники остеогенної активності стовбурових стромальних клітин кісткового мозку голівки стегнової кістки хворих на диспластичний коксартроз, коксартроз на тлі СЕД та в нормі

Групи хворих	Загальна кількість ядровмісних клітин у 1 см ³ $\times 10^7$	Кількість КУОф в 1 см ³ спонгіози $\times 10^4$	Ефективність клонування КУОф серед 10 ⁵ ядровмісних клітин кісткового мозку
Хворі на диспластичний коксартроз	2,49 $\pm$ 0,77	0,485 $\pm$ 0,240	9,21 $\pm$ 2,03
Хворі з коксартрозом на ґрунті СЕД	0,95 $\pm$ 0,38, n = 16	0,1621 $\pm$ 0,1104, n = 13	32,50 $\pm$ 22,44, n = 13
Норма	13,06 $\pm$ 0,7	1,28 $\pm$ 0,13	10,8 $\pm$ 2,0

Таблиця 2. Біохімічні показники в хрящовій тканині та синовіальній рідині у хворих з ОА на ґрунті СЕД

Групи	Колаген	Глікозаміноглікани	Колагеназа
Хворі з ОА на ґрунті СЕД	0,95 $\pm$ 0,10	2,83 $\pm$ 0,30	7,35 $\pm$ 0,20
Норма	1,85 $\pm$ 0,20	5,10 $\pm$ 0,40	3,03 $\pm$ 0,20

Список літератури

1. Алексеева Л.И., Верткин А.Л., Мендель О.И., Наумов А.В., Шамуилова М.М. Коморбидность при остеоартрозе: рациональные подходы к лечению больного // *Русский мед. журнал.* — 2009. — Т. 17, № 21. — С. 1472-1476.
2. Артеменко Н.А., Чвамания М.А. Особенности прогрессирования и лечения остеоартроза // *Русский мед. журнал.* — 2005. — Т. 13, № 7. — С. 403-406.
3. Астахова В.С. Остеогенные клетки-предшественники костного мозга человека. — К.: Феникс, 2000. — 176 с.
4. Гужевський І.В., Герасименко С.І., Панченко Л.М., Соколовська О.Р. Особливості перебігу раннього післяопераційного періоду та медичної реабілітації після тотального ендопротезування суглобів нижніх кінцівок при спондило-епіфізарній дисплазії // *Травма.* — 2007. — Т. 8, № 4. — С. 455-457.
5. Кадурина Т.И. Дисплазия соединительной ткани. Руководство для врачей / Т.И. Кадурина, В.Н. Горбунова. — СПб.: ЭЛБИ, 2009. — 714 с.
6. Коваленко В.Н., Лысенко И.В., Панченко Л.М. Культура стволовых стромальных клеток костного мозга человека как модель для изучения прямого влияния фармакологических препаратов при остеоартрозе // *Український ревматологічний журнал.* — 2006. — № 3(25). — С. 45-48.
7. Корж Н.А. Остеоартроз: консервативная терапия / Корж Н.А., Дедух Н.В., Зупанец И.А. — Х.: Золотые страницы, 2007. — 424 с.
8. Насонова В.А. Остеоартроз — проблема полиморбидности // *Consilium Medicum.* — 2009. — № 2. — С. 5-8.
9. Панченко Л.М. Показатели остеогенной активности костного мозга человека и их практическое использование: Дис... канд. мед. наук: 14.01.21 / Панченко Леся Михайловна. — К., 1997. — 115 с.
10. Рой І.В. Дисплазія сполучної тканини в прогнозуванні розвитку та клінічного перебігу остеохондрозу хребта: Автореф. дис... д-ра мед. наук: спец. 14.01.21 «Ортопедія та травматологія» / І.В. Рой. — Київ, 2006. — 31 с.
11. Felson D.T., Kim Y.J. The futility of current approaches to chondroprotection // *Arthritis Rheum.* — 2007. — V. 56. — P. 1378-1383.
12. Gleghorn L., Ramesar R., Beighton P., Wallis G. A mutation in the variable repeat region of the aggrecan gene (AGC1) causes a form of spondyloepiphyseal dysplasia associated with severe, premature osteoarthritis // *Am. J. Hum. Genet.* — 2005. — V. 77, № 3. — P. 484-90.
13. Hall C.M. International nosology and classification of constitutional disorders of bone (2001) // *Am. J. Med. Genet.* — 2002. — V. 113, № 1. — P. 65-77.
14. Kerkhof H.J. et al. A genome-wide association study identifies an osteoarthritis susceptibility locus on chromosome 7q22 // *Arthritis Rheum.* — 2010 Feb. — V. 62, № 2. — P. 499-510.
15. Namee P. et al. The clinical effectiveness of glucosamine and chondroitin supplements in slowing or arresting progression of osteoarthritis of the knee: a systematic review and economic evaluation // *Health Technol. Assess.* — 2009. — № 13(52).
16. OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man). www.ncbi.nlm.nih.gov/omim
17. Peach C.A., Carr A.J., Loughlin J. Recent advances in the genetic investigation of osteoarthritis // *Trends Mol. Med.* — 2005 Apr. — V. 4, № 4. — P. 186-191.
18. Wilson J.F. To Stop Osteoarthritis, Fixing Cartilage May Not Be Enough // *Ann. Intern. Med.* — 2007. — V. 147. — P. 437-439.
19. Zhai G., Hart D.J., Kato B.S. et al. Genetic influence on the progression of radiographic knee osteoarthritis: a longitudinal twin study // *Osteoarthritis Cartilage.* — 2007. — № 15. — P. 222-225.

Отримано 11.04.11 □

Гужевский И.В., Герасименко С.И., Панченко Л.М., Магомедов А.М.
 ГУ «Институт травматологии и ортопедии АМН Украины»,
 г. Киев

Guzhevsky I.V., Gerasimenko S.I., Panchenko L.M.,
 Magomedov A.M.
 SI Institute of Traumatology and Orthopedics of AMS of
 Ukraine, Kyiv, Ukraine

ОСТЕОГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ СТВОЛОВЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА У ВЗРОСЛЫХ ПРИ ОСТЕОАРТРОЗЕ НА ПОЧВЕ СПОНДИЛОЭПИФИЗАРНОЙ ДИСПЛАЗИИ

Резюме. Исследованы образцы спонгиозной костной ткани головки бедренной кости 13 больных в возрасте от 28 до 61 года с коксартрозом 3–4-й стадии (по классификации J.H. Kellgren, J.S. Lawrence, 1957), который развился на почве спондилоэпифизарной дисплазии. Выявлено существенное повышение регенераторного потенциала клеток-предшественников костного мозга в области пораженных патологическим процессом суставов, что позволяет рассчитывать на позитивные отдаленные результаты при использовании хирургических методов лечения, связанных с имплантацией аллогенных материалов в область суставов.

Ключевые слова: остеогенная активность, остеоартроз, спондилоэпифизарная дисплазия.

OSTEOGENIC ACTIVITY OF STEM STROMAL CELL OF BONE MARROW IN ADULTS WITH OSTEOARTHRITIS RELATED TO SPONDYLOEPIPHYSIAL DYSPLASIA

Summary. There have been analyzed the samples of spongy bone of femoral head in 13 patients aged 28–61 years with stage III–IV coxarthrosis (according with classification of J.H. Kellgren, J.S. Lawrence, 1957) following the spondyloepiphyseal dysplasia. There was revealed the significant increase of regenerative capacity of regenerative capacity of progenitor cells of marrow in the area of joints affected by the pathological processes. It makes possible to count upon positive long-term results at using surgical methods of treatment associated with implantation of allogenic materials the joints.

Key words: osteogenic activity, osteoarthritis, spondyloepiphyseal dysplasia.