

УДК 616.728.2-007.2:611.018.46.018.1"712.4"J(045)

Клоногенна активність стовбурових стромальних клітин кісткового мозку за різних форм перебігу ідіопатичного та диспластичного коксартрозу

Г. В. Гайко, Л. М. Панченко, О. В. Калашніков

ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», Київ

Objective: To determine clonogenic activity of bone marrow stromal stem cells (BMSSC) in bones forming the hip joint in patients with various forms of course of idiopathic and dysplastic coxarthrosis (CA). Methods: We cloned BMSSC according to A. J. Friedenstein method. A total of 56 patients with idiopathic and 23 dysplastic CA stage IV were examined. We studied 201 bone marrow samples (140 — idiopathic and 61 — dysplastic CA), 325 cultures of BMSSC were grown. Cancellous bone was taken from three sites: the roof of the acetabulum, femoral head and intertrochanteric area. Course of CA was determined according to the working classification developed. We used also statistical methods. Results: It was found that the higher the course rate of idiopathic or dysplastic CA the lower clonogenic activity of BMSSC in bones forming the hip joint. It was revealed that the state of the connective tissue influences directly to the development of violations in trophic processes in bone tissue of patients with a form of rapid course of CA which is confirmed by the results of X-ray (atrophic type of bone formation according to Bombelli), biochemical (decreasing of content of glycosaminoglycans and protein synthesizing fraction of hydroxyproline in serum) and other studies. Conclusions: There was an inverse relationship between the clonogenic activity of BMSSC in bones forming the hip joint, and the speed (and consequently form) of course for idiopathic and dysplastic CA. There was proved significant ($p \leq 0,05$) decreasing in osteogenic potency of BMSSC in patients with a form of rapid course of CA. Revealed features bring closer to understanding the complex of pathogenic mechanisms of idiopathic and dysplastic CA prove an important role of connective tissue dysplasia in it and provide a differentiated approach to the methods of surgical treatment (use of bone autoplasty, etc.). Key words: idiopathic and dysplastic coxarthrosis, clonogenic activity, stromal stem cells from bone marrow, course pattern.

Цель: определить клоногенную активность стволовых стромальных клеток костного мозга (ССККМ) костей, образующих тазобедренный сустав, у больных с различными формами течения идиопатического и диспластического коксартроза (КА). Методы: ССККМ клонировали по методике А. Я. Фриденштейна. Обследовано 56 больных идиопатическим и 23 диспластическим КА IV стадии. Исследован 201 образец костного мозга (140 — идиопатический и 61 — диспластический КА), выращено 325 культур ССККМ. Спонгиозную кость брали из крыши вертлужной впадины, головки бедренной кости и межвертельной зоны. Течение КА определяли согласно разработанной рабочей классификации. Результаты: установлено, что чем выше скорость течения идиопатического или диспластического КА, тем ниже клоногенная активность ССККМ костей, образующих тазобедренный сустав. Состояние соединительной ткани непосредственно влияет на развитие нарушений трофических процессов в костной ткани больных с быстрой формой течения КА, что подтверждают результаты рентгенографического (атрофический тип костеобразования по Bombelli), биохимического (уменьшение содержания гликозаминогликанов и белоксинтезирующей фракции гидроксипролина в сыворотке крови) и других обследований. Выводы: выявлена обратная связь между клоногенной активностью ССККМ костей, образующих тазобедренный сустав, и скоростью (соответственно и формой) течения идиопатического и диспластического КА. Доказано достоверное ($p \leq 0,05$) уменьшение остеогенной потенции ССККМ у больных с быстрой формой течения КА. Установленные особенности развития идиопатического и диспластического КА доказывают важную роль в дисплазии соединительной ткани и обеспечивают дифференцированный подход к методикам хирургического лечения больных (использование костной аутопластики и т. п.). Ключевые слова: идиопатический и диспластический коксартроз, клоногенная активность, стволовые стромальные клетки костного мозга, формы течения.

Ключові слова: ідіопатичний та диспластичний коксартроз, клоногенна активність, стовбурові стромальні клітини кісткового мозку, форми перебігу

Вступ

Остеоартроз (ОА) — одна з найпоширеніших форм ураження суглобів та найголовніша причина працездатності та інвалідності хворих, яка призводить до погіршення якості життя. За останні роки кількість хворих на ОА невпинно зростає [2, 4, 16, 23]. Факт визнання міжнародною спільнотою актуальності цієї проблеми підтверджують оголошення ООН 2000–2010 років десятиріччям кісткової та суглобової патології [14, 18]. Хворі на остеартроз кульшового суглоба — коксартроз (КА) — це до 40 % усіх пацієнтів з дегенеративно-дистрофічними ураженнями суглобів та близько 8 % у структурі захворювань опорно-рухової системи [6, 14, 17]. У 60–64 % хворих на КА знижується працездатність, а в 11,5 % настає інвалідність [9, 14].

Вважають, що для КА притаманний тривалий хронічний перебіг захворювання з поступовим незворотнім прогресуванням відповідної симптоматики. Завдяки повільній динаміці довго зберігається працездатність [22]. Проте в зарубіжних джерелах з'явилися повідомлення про швидку форму його перебігу з кістково-суглобовою деструкцією [19]. Зважаючи на це, ми розробили класифікацію перебігу КА, де виділили швидку, помірну та повільну форми прогресування КА. Фактори, які впливають на цей процес, нині остаточно не з'ясовані.

Останніми роками з'явилися роботи, присвячені вивченню клоногенної активності стовбурових стромальних клітин (ССК) кісткового мозку. ССК або остеогенні клітини-попередники кісткового мозку відповідальні за всі фази остеогенезу в дорослому організмі [1]. За свою властивість в умовах культури утворювати з однієї клітини-попередниці колонію-клон, скупчення 50 клітин і більше, від чого саме і виникла назва клонування, їх також іменують колонієутворювальними одиницями фібробластів (КУОФ) кісткового мозку [1]. Кількість таких клітин в одиниці об'єму спонгіози будь-якої ділянки скелета та їх функціональна активність (ефективність клонування) свідчать про здатність кісткової тканини до ремоделювання [13]. Саме ці кількісно-якісні показники характеризують реноваційні властивості строми кісткового мозку [1, 5, 13, 10].

Особливих успіхів досягли вітчизняні фахівці у вивченні клоногенної активності ССК кісткового мозку та вибору методу фіксації ендопротеза кульшового суглоба (КС) за умов ревматоїдного артрити, анкілозивного спондиліту та асептичного некрозу головки стегнової кістки [5, 6, 10, 11, 13]. Але ми не виявили робіт щодо вивчення клоногенної активності клітин-попередників кісткового

мозку у хворих з різним перебігом ідіопатичного або диспластичного КА, від якої може залежати тривалість виживання та надійність фіксації компонентів ендопротеза КС [20].

Тому цікавим у науковому та практичному плані вважаємо мету роботи: визначити клоногенну активність стовбурових стромальних клітин кісткового мозку кісток, що утворюють кульшовий суглоб, у хворих із різними формами перебігу ідіопатичного та диспластичного коксартрозу.

Матеріал та методи

Клонування ССК або в КУОФ кісткового мозку проводили за методикою О. Я. Фріденштейна в модифікації В. С. Астахової [1]. За допомогою методики клонування КУОФ кісткового мозку обстежено 56 хворих на ідіопатичний КА та 23 на диспластичний КА IV стадії за класифікацією J. H. Kellgren та J. S. Lavrence [21]. Досліджено 201 зразок кісткового мозку (140 від хворих на ідіопатичний та 61 від хворих на диспластичний КА), вирощено 325 культур ССК кісткового мозку.

Характеристика обстежених хворих на ідіопатичний КА: серед 56 хворих 42 жінки (75 %) та 14 чоловіків (25 %) у віці від 45 до 80 років, середній вік ($64,8 \pm 1,2$) року.

Група хворих на диспластичний коксартроз нараховувала 23 особи — 17 жінок (73,9 %) та 6 чоловіків (26,1 %) віком від 24 до 69 років, середній вік ($51,4 \pm 2,4$) року.

Матеріалом для дослідження була спонгіозна кістка, яку виділяли під час хірургічного втручання з трьох ділянок: даху кульшової западини, головки та проксимального метафіза стегнової кістки (міжвертлюгова ділянка).

Перебіг КА визначали згідно з розробленою робочою класифікацією перебігу ОА кульшового суглоба [3], представленою в табл. 1.

Проведено статистичну обробку отриманого матеріалу.

Таблиця 1

Класифікація форм перебігу ідіопатичного та диспластичного КА

КА за чинниками виникнення та формою перебігу захворювання	Критерії прогресування
Ідіопатичний	до 5 років від початку захворювання до IV стадії КА
Швидка	від 5 до 10 років
Помірна	понад 10 років
Повільна	
Диспластичний	вік до 30 років на початок захворювання
Швидка	від 30 до 50 років
Помірна	
Повільна	понад 50 років

Результати та їх обговорення

Показники остеогенної активності КУОф кісткового мозку спонгіози з різних ділянок КС хворих на ідіопатичний та диспластичний КА залежно від форми його перебігу представлено в табл. 2 та 3.

Як бачимо з табл. 2, є суттєва різниця параметрів окремих показників клоногенної активності ССК кісткового мозку в спонгіозі кульшової западини хворих на ідіопатичний КА в разі швидкої, помірної та повільної форм перебігу патологічного процесу. У випадку помірної форми перебігу у 4,4 раза ві-

рогідно ($p < 0,05$) вищий вміст КУОф в одиниці об'єму і у 1,4 раза вища ефективність клонування, ніж за швидкої. У культуральних чашках пацієнтів зі швидкою формою перебігу ідіопатичного КА здебільшого виростили поодинокі стромальні фібробласти, які не утворювали колоній, або поодинокі дрібні одношарові колонії (рисунок, а). У чашках хворих з помірною та повільною формами переважав ріст багатшарових колоній ССК кісткового мозку з ефективністю клонування до 5,60 та 9,32 серед 10^5 ядровмісних клітин відповідно (рисунок, б).

Таблиця 2

Показники остеогенної активності ССК кісткового мозку кісток, які утворюють кульшовий суглоб, хворих на ідіопатичний коксартроз залежно від форм його перебігу

Ділянка, з якої взято матеріал	Форма перебігу	Загальна кількість ядровмісних клітин в $1 \text{ cm}^3 \times 10^7$	Кількість КУОф в 1 cm^3 спонгіози $\times 10^4$	Ефективність клонування КУОф серед 10^5 ядровмісних клітин кісткового мозку
Кульшова западина	швидка	$1,17 \pm 0,51$ n = 26	$0,0678 \pm 0,0322$ n = 25	$3,95 \pm 1,34$ n = 25
	помірна	$2,29 \pm 0,98$ n = 19	$0,2976 \pm 0,0190$ n = 14	$5,60 \pm 2,68$ n = 14
	повільна	$0,56 \pm 0,14$ n = 17	$0,0872 \pm 0,0414$ n = 13	$9,32 \pm 2,70$ n = 13
Головка стегнової кістки	швидка	$1,41 \pm 0,38$ n = 21	$0,0637 \pm 0,0253$ n = 17	$3,29 \pm 1,29$ n = 17
	помірна	$2,87 \pm 0,94$ n = 18	$0,1604 \pm 0,0659$ n = 18	$4,33 \pm 1,39$ n = 18
	повільна	$2,79 \pm 0,75$ n = 15	$0,0318 \pm 0,0241$ n = 12	$4,04 \pm 2,69$ n = 12
Міжвертлюгова ділянка стегнової кістки	швидка	$3,82 \pm 1,01$ n = 25	$0,4852 \pm 0,1716$ n = 22	$6,98 \pm 1,86$ n = 22
	помірна	$3,99 \pm 1,29$ n = 22	$0,2044 \pm 0,0740$ n = 20	$6,18 \pm 1,57$ n = 20
	повільна	$1,24 \pm 0,19$ n = 16	$0,1045 \pm 0,0335$ n = 16	$9,65 \pm 3,47$ n = 16

Таблиця 3

Показники остеогенної активності ССК кісткового мозку кісток, які утворюють кульшовий суглоб, хворих на диспластичний коксартроз залежно від форми його перебігу

Ділянка, з якої взято матеріал	Форма перебігу	Загальна кількість ядровмісних клітин в $1 \text{ cm}^3 \times 10^7$	Кількість КУОф в 1 cm^3 спонгіози $\times 10^4$	Ефективність клонування КУОф серед 10^5 ядровмісних клітин кісткового мозку
Кульшова западина	швидка	$1,43 \pm 0,43$ n = 18	$0,1193 \pm 0,03226$ n = 10	$11,53 \pm 3,45$ n = 10
	помірна	$1,27 \pm 0,33$ n = 13	$0,2676 \pm 0,0945$ n = 13	$11,01 \pm 3,51$ n = 13
	повільна	$2,89 \pm 1,07$ n = 12	$0,1467 \pm 0,0632$ n = 11	$11,78 \pm 5,08$ n = 11
Головка стегнової кістки	швидка	$1,64 \pm 0,85$ n = 9	$0,0222 \pm 0,0209$ n = 6	$1,71 \pm 1,42$ n = 6
	помірна	$1,93 \pm 0,57$ n = 9	$0,0764 \pm 0,0470$ n = 9	$4,09 \pm 2,22$ n = 9
	повільна	$3,78 \pm 1,22$ n = 10	$0,3325 \pm 0,1569$ n = 9	$4,08 \pm 1,81$ n = 9
Міжвертлюгова ділянка стегнової кістки	швидка	$5,25 \pm 2,19$ n = 11	$0,0412 \pm 0,0402$ n = 7	$3,93 \pm 2,59$ n = 7
	помірна	$5,75 \pm 1,46$ n = 10	$1,0481 \pm 0,4342$ n = 9	$19,34 \pm 7,83$ n = 9
	повільна	$1,24 \pm 0,50$ n = 10	$0,0488 \pm 0,0302$ n = 9	$5,16 \pm 2,22$ n = 9

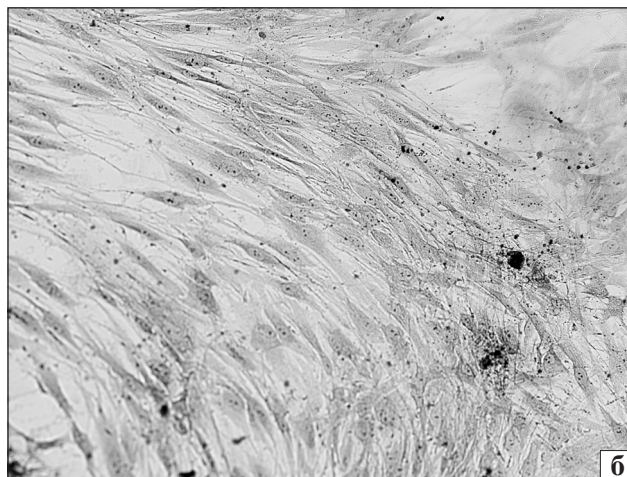
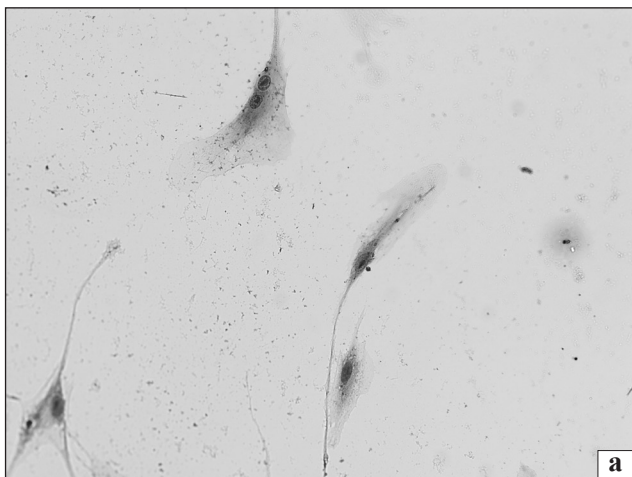


Рисунок: Мікрофото культур ССК кісткового мозку за швидкої (а) та повільної (б) форм прогресування ідіопатичного КА: а) поодинокі стромальні фібробласти не утворюють колоній, б) ріст ССК кісткового мозку з утворенням колоній

Аналогічна тенденція виявлена і в головці стегнової кістки, хоча різниця статистично достовірна саме для вмісту КУОФ в одиниці об'єму.

Дещо неочікувані результати отримані в міжвертлюговій ділянці стегнової кістки. Кількість ССК кісткового мозку в 1 см³ за швидкої форми перебігу ідіопатичного КА виявилася найвищою і зменшувалася в разі помірної та повільної форм. Щодо показника ефективності клонування КУОФ кісткового мозку, то вона була найзбереженішою в разі повільної форми перебігу.

Як бачимо з табл. 3, за вмістом КУОФ кісткового мозку в 1 см³ усіх досліджуваних ділянок КС прослідковується суттєва значуща ($p < 0,05$) різниця параметрів показників у разі швидкої та помірної форм перебігу на користь останнього у хворих на диспластичний КА.

За ефективністю клонування ССК кісткового мозку виявлені відмінності між швидкою та помірною формою перебігу в головці та міжвертлюговій ділянці стегнової кістки.

Слід зауважити, що у хворих на ідіопатичний КА найвищі параметри досліджуваних показників найбільшого трапляються саме за повільного перебігу, а у хворих на диспластичний КА — за помірного перебігу патологічного процесу. Одним із пояснень, на наш погляд, може бути значна різниця за віком у групах спостережень. Середній вік хворих на диспластичний КА за швидкого варіанту перебігу становить ($45,33 \pm 3,4$) року, а за повільного ($64,0 \pm 1,1$) року.

Отже, чим вища швидкість перебігу патологічного процесу, тим нижча клоногенна активність ССК кісткового мозку в кістках, які утворюють кульшовий суглоб. Суттєве пригнічення регенераторного потенціалу кісткової тканини за умов

швидкої форми перебігу цієї патології можна пояснити завдяки нашим попереднім клінічним та інструментальним дослідженням [7, 8]. Зокрема, доведено наявність дисплазії сполучної тканини саме у хворих зі швидкою формою перебігу патологічного процесу. Стан сполучної тканини безпосередньо впливає на розвиток порушень трофічних процесів у кістковій тканині хворих зі швидкою формою перебігу ідіопатичного та диспластичного КА, що підтверджують результати рентгенографічного (атрофічний тип кісткоутворення за Bombelli) [15], біохімічного (зменшення вмісту глікозамінгліканів та білоксинтезувальної фракції гідроксипроліну в сироватці крові) [12] та інших обстежень хворих.

Проведені дослідження мають суттєву наукову та діагностичну цінність та є ще одним кроком у розумінні складних патогенетичних механізмів розвитку КА, що в подальшому допоможе визначити диференційований підхід до методик хірургічного лікування хворих на цю складну ортопедичну патологію.

Висновки

Визначений зворотній взаємозв'язок показників клоногенної активності ССК кісткового мозку кісток, які утворюють кульшовий суглоб, і швидкості перебігу (відповідно і формою перебігу) ідіопатичного та диспластичного КА. Доведено значуще ($p \leq 0,05$) зменшення остеогенної потенції ССК кісткового мозку у хворих зі швидкою формою перебігу ідіопатичного та диспластичного КА.

Враховання зазначених особливостей дає змогу усвідомити складні патогенетичні механізми розвитку ідіопатичного та диспластичного КА, доводить важливу роль у ньому недиференційованої дисплазії сполучної тканини та в подальшому сприятиме

визначенню диференційованого підходу до методик хірургічного лікування хворих на цю складну ортопедичну патологію (використання кісткової автопластики тощо).

Список літератури

1. Астахова В. С. Остеогенные клетки-предшественники костного мозга человека / В. С. Астахова. — Київ: Феникс, 2000. — 176 с.
2. Багірова Г. Г. Остеоартроз: епідеміологія, клініка, діагностика, лічення / Г. Г. Багірова, О. Ю. Майко. — М.: Арнебія, 2005. — 224 с.
3. Гайко Г. В. Стан ендопротезування суглобів в Україні та перспективи його розвитку / Г. В. Гайко: матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю [«Тотальне і ревізійне ендопротезування великих суглобів»]. — К.-Львів, 2003. — С. 3–7.
4. Гайко Г. В. Визначення факторів ризику швидкого прогресування остеоартрозу кульшового суглоба / Г. В. Гайко, О. В. Калашніков // Медицина сьогодні і завтра. — 2012. — № 1 (54). — С. 48–52.
5. Іридобіомікроскопія в комплексному обстеженні хворих на коксартроз / Г. В. Гайко, І. В. Рой, О. В. Калашніков [та ін.] // Вісник морської медицини. — 2011. — № 3. — С. 21–28.
6. Герасименко С. І. Остеогенна активність стромальних стовбурових клітин кісткового мозку кісток, що утворюють кульшовий суглоб, у хворих на ревматоїдний артрит / С. І. Герасименко, Л. М. Панченко, В. В. Тимочук // Український ревматологічний журнал. — 2007. — № 3 (29). — С. 58–63.
7. Герасименко С. І. Сучасний підхід до лікування остеоартрозу / С. І. Герасименко, І. В. Гужевський, М. В. Полулях: матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 90-річчю ДУ «Інститут травматології та ортопедії АМН України». — К., 2009. — С. 40–41.
8. Калашніков О. В. Клініко-анамнестичні ознаки дисплазії сполучної тканини у хворих на коксартроз / О. В. Калашніков, В. М. Майко // Вісник морфології. — 2011. — Т. 17, № 2. — С. 344–348.
9. Лоскутов А. Е. Тотальное эндопротезирование тазобедренного сустава при диспластическом коксартрозе / А. Е. Лоскутов, М. Л. Головаха // Ортопедия, травматология и протезирование. — 1998. — № 3. — С. 122–123.
10. Микроокружение клеток-предшественников костного мозга больных с поражением суставов / В. С. Астахова, О. И. Рыбачук, Л. М. Панченко, В. П. Торчинский // Иммунология та алергологія. — 2000. — № 1. — С. 4–7.
11. Нова методика диференційної діагностики ревматоїдного артрити та анкілозуючого спонділоартрити за колоніесутворюючою активністю кісткового мозку / В. С. Астахова, С. І. Герасименко, Л. М. Панченко, М. В. Полулях // Інформаційний бюлетень. Додаток до «Журналу Академії медичних наук України». — 2002. — Вип. 15. — С. 63.
12. Особенности биохимических изменений в сыворотке крови в зависимости от формы прогрессирования идиопатического коксартроза / Г. В. Гайко, А. М. Магомедов, Ал. В. Калашников, Т. А. Кузуб // Травма. — 2012. — Т. 13, № 2. — С. 64–67.
13. Панченко Л. М. Показатели остеогенной активности костного мозга человека и их практическое использование: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.21 / Леся Михайловна Панченко. — Київ, 1997. — 115 с.
14. Підгаєцький В. М. Тотальне безцементне ендопротезування у хворих на остеоартроз кульшового суглобу: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.21 / Віталій Михайлович Підгаєцький. — Київ, 2011. — 203 с.
15. Рентгендіагностика прогресування ідіопатичного та диспластичного коксартрозу / Н. О. Науменко, О. В. Калашніков, Ю. Д. Шараєвська, В. А. Боєр // Лучевая диагностика. Лучевая терапия. — 2011. — № 4. — С. 39–43.
16. Современные подходы к диагностике и лечению остеоартроза / А. И. Дядык, Н. И. Шпилевая, И. И. Здиговская [и др.]. — Донецк, 2005. — 32 с.
17. Філіпенко В. А. Переваги діагностики остеоартрозу великих суглобів на основі принципів доказової лабораторної медицини / В. А. Філіпенко, Ф. С. Леонтєва, В. О. Туляков: матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 90-річчю ДУ «Інститут травматології та ортопедії АМН України». — Київ, 2009. — С. 109–110.
18. Хитров Н. А. Структура заболеваемости остеоартрозом и проблема наличия сопутствующих заболеваний / Н. А. Хитров // Терапевтический архив. — 2005. — № 12. — С. 59–64.
19. Batra S. Rapidly destructive osteoarthritis of the hip joint: a case series / S. Batra, M. Batra, A. McMurtrie // J. Orthop. Surg. Res. — 2008. — Vol. 3 (3). — P. 1749–1799. DOI: 10.1186/1749-799X-3-3.
20. Bombelli R. Osteoarthritis of the hip. Pathogenesis and consequent therapy / R. Bombelli. — Berlin-Heidelberg-New York: Springer, 1976. — P. 27–28.
21. Kellgren J. Radiological assessment of osteoarthritis / J. Kellgren, J. Lawrence // Ann. Rheum. Dis. — 1957. — Vol. 16. — P. 494–501.
22. Spector T. D. How serious is knee osteoarthritis? / T. D. Spector, D. J. Hart // Ann. Rheum. Dis. — 1992. — Vol. 51 (10). — P. 1105–1106.
23. Weinstein D. F. The bone and joint decade / S. L. Weinstein // J. Bone Joint Surg. — 2000. — Vol. 82-A, № 1. — P. 237–266.

DOI: <http://dx.doi.org/10.15674/0030-59872014436-40>

Стаття надійшла до редакції 18.03.2014

CLONOGENIC ACTIVITY OF BONE MARROW STROMAL STEM CELLS IN VARIOUS FORMS OF COURSE OF IDIOPATHIC AND DYSPLASTIC COXARTHROSIS

G. V. Gayko, L. M. Panchenko, O. V. Kalashnikov

SI «Institute of Traumatology and Orthopedics, National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv