

Pregledni prispevek/Review article

ZDRAVLJENJE POŠKODOVANEGA SKLEPNEGA HRUSTANCA

INJURED ARTICULAR CARTILAGE REPAIR

*Ariana Barlič,¹ Elvira Maličev²*¹ Educell d.o.o., Letališka 33, 1000 Ljubljana² Zavod RS za transfuzijsko medicino, Šlajmerjeva 6, 1000 Ljubljana**Izvleček**

Izhodišča *Sklepni hrustanec pokriva končne dele sosednjih kosti. Med gibanjem omogoča čim manjše trenje dveh sklepnih površin med seboj ter s prerazporejanjem sil blaži obremenitve na subhondralno kost. Izmed vseh sklepov je hrustanec v kolenu poškodovan najpogosteje. Omejene hrustančne spremembe so pogost vzrok bolečin in motenega delovanja kolena. Zaradi slabe sposobnosti celjenja hrustančnega tkiva lahko napredujejo v predčasno artrozo. Za zdravljenje hrustančnih sprememb imamo na voljo številne operativne metode. Večina od njih le začasno pozdravi simptome, saj tkivo navadno degenerira v fibrozni hrustanec in se simptomi vrnejo. Obetavnejši so načini zdravljenja, pri katerih se manjkajoči sklepnih hrustanec zapolni z ustreznim nadomestkom. To so metode stimulacije kostnega mozga, osteohondralnega presajanja in avtologne implantacije hondrocitov (ACI). ACI je metoda zdravljenja z bolnikovimi lastnimi celicami.*

Zaključki *Raziskave kažejo, da je najpogostejša uporabljena kirurška metoda mozaična plastika oziroma stimulacija kostnega mozga z mikrofrakturiranjem. Učinkovitost metode avtologne implantacije hondrocitov naj bi bila na daljši rok uspešnejša od mikrofrakturiranja predvsem pri izgradnji hialinega tipa hrustanca namesto fibroznega tkiva, čeprav trdnih znanstvenih dokazov do danes še nimamo.*

Ključne besede *sklepni hrustanec; spremembe; hondrociti; celična terapija*

Abstract

Background *Articular cartilage covers the articulating ends of the bones in synovial joints. During movements it enables the joints to operate at high loads while keeping contact stresses low, and create a low friction environment for the bones to move on each other. Among the synovial joints, a knee is the one that is most frequently injured. Limited cartilage lesions are frequently a main cause for pain and disturbances in knee motion. Due to inability of articular cartilage to initiate any clinically appreciable healing response, lesions can progress to untimely arthrosis. There are various operative methods for cartilage treatment. However, majority of them only treat symptoms temporarily. Namely, the tissue usually degenerates to fibrocartilage and symptoms reappear. More promising are those methods of treatment which incorporate a replacement of missing cartilage with a proper substitute. These methods include a stimulation of the bone marrow to form a repair tissue, osteochondral transplantation and autologous chondrocyte implantation (ACI). ACI is a method of treatment that involves an implementation of the patient's own cultured cartilage cells in the injured area.*

Conclusions *Surveys show that the most frequently used surgical methods are mosaicplasty and bone marrow stimulation with microfracturing. The efficacy of the autologous chondrocyte implantation method should be superior to microfracturing on a long run. Especially when (re)generation of the hyaline cartilage instead of fibrous tissue (fibrocartilage) is concerned. However, it has not been scientifically proved yet.*

Key words *articular cartilage; lesions; chondrocytes; cell therapy*

Avtorica za dopisovanje / Corresponding author:

Dr. Ariana Barlič, Educell d.o.o., Letališka 33, 1000 Ljubljana, tel.: 01/5438180, e-mail: ariana.barlic@educell.si

Uvod

Poškodbe sklepne hrustanca so najpogostejši tip poškodb, s katerimi se srečujejo ortopedi. Pri retrospektivnem pregledu 31.510 kolenskih artroskopij je bilo kar 63 % hondralnih sprememb.¹ Nastanek lezije je lahko posledica enkratne poškodbe ali ponavljajočih se manjših poškodb (npr. pri nestabilnem kolenu). Poškodovano hrustančno tkivo se slabo celi. Glavni razlog za slabo celjenje hrustanca je neožiljenost tkiva, zaradi česar po poškodbi ne pride do trojnega odgovora (nekroza, vnetje, celjenje), prisotnega pri drugih mišično-skeletnih tkivih. Poleg tega se hondrociti v zrelem človeškem hrustancu ne razmnožujejo. Čeprav aktivno urejajo homeostazo hrustančnega matriksa, tvorbe makromolekul ne morejo povečati do te mere, da bi ustrezno zacelili večje okvare.² Nezdravljene spremembe najpogosteje vodijo v razvoj osteoartritisa. Razvile so se različne strategije zdravljenja, ki so lahko artroskopske ali pa potekajo kot odprte operacije. Mednje spadajo tehnike, ki stimulirajo kostni mozeg, osteohondralno presajanje in metoda implantacije hondrocitov.³

Značilnosti hrustančnega tkiva

Med hrustančna tkiva štejemo hialini, elastični in vezivni hrustanec. Sklepni ali artikularni hrustanec je vrsta hialinena hrustanca, ki s pomočjo sinovialne tekočine omogoča gibanje dveh sklepnih površin z minimalnim trenjem ter s prerazporejanjem sil ublaži obremenitve na subhondralno kost. Sklepni hrustanec udov nastane iz embrionalnih mezenhimske celice oziroma iz mezoderma. Med endohondralnim pokostenjevanjem hrustančne zasnove dolgih kosti zamenja kostno tkivo, pri čemer ostane hialini hrustanec le še na končnih delih kosti, na epifizah in diafizi. Hialini hrustanec najdemo predvsem v embrionalnih kosteh in sklepih, poleg tega pa še v rebrih, delu nosnega pretina, v uhlju in v določenih strukturah zgornjih dihalnih poti.^{4,5}

Čeprav je sklepni hrustanec debel največ nekaj milimetrov, je presenetljivo odporen na pritisk in raztezanje. Sprejema in kompenzira lahko obremenitve, ki dosežejo petkratno težo telesa. Večinoma omogoča normalno delovanje sklepa osemdeset let in več, čemur se do sedaj še ni približal nobeden od sintetičnih materialov.^{4,6}

Sklepni hrustanec ne vsebuje krvnih in limfnih žil ter živcev. Znotraj samega sklepa in med različnimi sklepi se hrustanci razlikujejo v svoji debelini, gostoti celic, zgradbi zunajceličnega matriksa in mehanskih lastnostih.⁴ V hrustančnem tkivu je prisotna ena sama vrsta celic, to so hrustančne celice ali hondrociti. Večino tkiva zapolnjuje zunajcelični matriks, ki ga lahko proizvajajo le omenjene celice.⁷ Zreli hondrociti so sferične oblike. Zanje je značilna tvorba kolagena II, velikih agregirajočih proteoglikanov, specifičnih nekolagenskih proteinov in urejanje teh molekul v hrustančni matriks. Strukturne makromolekule predstavljajo 20–40 % teže tkiva. Kolagenske fibrile dajejo hrustancu trdnost in togost, torej odpornost na raztezanje, proteoglikani pa elastičnost in prožnost, saj veže-

jo velike količine vode. Sklepni hrustanec vsebuje genetsko različne vrste kolagenov: poleg kolagena II še kolagene VI, IX, X in XI. Posamezne celice so presnovno precej aktivne, čeprav je skupna metabolična aktivnost tkiva nizka. To je posledica majhnega števila celic v njem. Po zaključku skeletne rasti se namreč večina hondrocitov ne deli več. Pri odraslem človeku predstavljajo hrustančne celice tako le odstotek celotne prostornine hrustanca. Hondrociti dobivajo večino hranilnih snovi iz sinovialne tekočine. Preden nutrienti dosežejo celico, morajo skozi dvojno difuzijsko pregrado: najprej skozi sinovialno tkivo in tekočino, nato še skozi hrustančni matriks. Matriks je selektiven glede velikosti molekul, naboja in njihove konformacije. Prav zaradi takšnega sistema prehranjevanja so hondrociti izpostavljeni nizkim parcialnim tlakom kisika, torej so bolj ali manj odvisni od anaerobne presnove.⁷

Obilni zunajcelični matriks hondrocite ščiti pred mehanskimi poškodbami med normalnim delovanjem sklepa ter celicam ohranja obliko in fenotipske lastnosti, med katerimi je bistvena tvorba kolagena II in agrekana. V fibroznem hrustančnem tkivu namreč prevladuje kolagen I, tvorba agrekana pa je zmanjšana.

Zdravljenje hrustančnih poškodb

Zaradi različnih razlogov, kot je na primer nepravilna obremenitev sklepne površine, se lahko poškoduje sklepni hrustanec.^{7,8} Hondrociti iz neposredne okolice se na to odzovejo s povečanjem presnovne dejavnosti, vendar navadno prevlada degradacijski proces nad anabolnim in začetna majhna sprememba se povečuje.⁹ Ko doseže subhondralno kost, se lahko prične proces njenega samodejnega popravila. Poškodba se takrat zapolni z vezivom, ki vsebuje pretežno fibrinski matriks in se dobro pritrdi na kostno tkivo, slabše pa na sklepni hrustanec. V spontano obnovo poškodbe so vključene različne zarodne celice iz kostnega mozga, iz maščobnega tkiva, krvi in obkvrnih tkiv, same kosti in sinovija.^{10,11} Pomembno vlogo v tem procesu imajo tudi rastni dejavniki. Tako nastalo vezivo pa nima več biomehanskih lastnosti zdravega hrustančnega tkiva.⁷

Številni kirurški posegi, ki temeljijo na fiziološkem procesu spontanega zdravljenja, kot tudi različne periostalne, perihondralne ali osteohondralne presaditve le začasno pozdravijo simptome, saj tkivo navadno degenerira v fibrozni hrustanec in simptomi se povrnejo.¹²

Stimulacija kostnega mozga (mikrofrakture...)

Pri teh metodah kontrolirano perforiramo subhondralno kost pod hrustančno spremembo ter s tem omogočimo elementom kostnega mozga (mezenhimske matične celice, rastni dejavniki), da se naberejo v sami spremembi, kjer v končni fazi tvorijo tkivo, podobno fibroznemu hrustancu. Tako nastali hrustanec zapolni poškodbo, olajša simptome, vendar ne zagotavlja strukturnih, biokemijskih in biomehanskih lastnosti, potrebnih za normalno dolgoročno delovanje sklepa.

Prednost v zdravljenju sklepnih sprememb so nadomestni načini zdravljenja, pri katerih se manjkajoči sklepni hrustanec zapolni z ustreznim nadomestkom.

Osteohondralno presajanje (mozaična plastika)

Presaditev avtolognega osteohondralnega čepa je zaenkrat edina metoda, ki zagotavlja in ohranja pravi, hialini tip sklepnega hrustanca. S sorazmerno neobremenjene površine sklepa se izrežejo čepi subhondralne kosti z zgorajležečim hialinim hrustancem ter se prenesejo v pripravljene luknje, podobne velikosti v hrustančni spremembi. Tehnika se najpogosteje uporablja za zdravljenje kolenskega sklepa in gležnja.

Avtologna implantacija hondrocitov (ACI)

Pri tej metodi gre za celično zdravljenje, ko uporabimo bolnikove zdrave hondrocite. Metodo so razvili za zdravljenje kolenskega hrustanca. Primerna je za popravilo majhnih do srednje velikih poškodb pri mlajših bolnikih (1–10 cm²).¹⁵ Pri prvi artroskopiji se oceni velikost hrustančne poškodbe in se odvzame majhen košček zdravega hrustančnega tkiva. V laboratoriju celice encimsko osamimo iz tkiva in jih namnožimo do želenega števila. Celice se v obliki suspenzije vbrizgajo na mesto poškodbe pod zaplato periosta, prej odvzetega z golenice. Slabost izvirne metode je hipertrofija periosta, invazivnost kirurškega posega in dediferenciranje hondrocitov. Razvoj metode poteka v smeri iskanja novih membran, ki lahko nadomestijo uporabo periosta in novih biomaterialov kot nosilcev celic. S celicami, nasajenimi na nosilcu, bo možna manj invazivna operacija (mini-artrotomija oz. artroskopija), obenem pa so takšne celice boljše kakovosti. Znano je namreč, da pri gojenju celic v enoslojni celični kulturi, ki je osnovna kultura za namnoževanje hondrocitov, prihaja do t. i. dediferenciacije. Celice spremenijo svoje fenotipske lastnosti; na videz postanejo podobne fibroblastom, izgubijo sposobnost izločanja proteoglikanov in namesto kolagena II proizvajajo kolagen I, kar pa za izgradnjo hialinoga tipa hrustanca ni zaželeno.^{16, 17} Ob nasaditvi celic na ustrezen tridimenzionalni nosilec je proces do neke mere reverzibilen. Celice spet postanejo okrogle oblike in preklopijo sintezo genov v smer hialinoga tipa hondrocitov.^{12, 16, 18} Na Sliki 1 je prikazana morfološka razlika med celicami, gojenimi v enoslojni kulturi, in celicami, nasajenimi v tridimenzionalni nosilec. Nosilec mora biti biodegradabilen, imeti mora ustrezne mehanske in kemijske lastnosti ter sposobnost uravnavanja celične dejavnosti, kot sta npr. razmnoževanje in diferenciacija. Uporabljajo se naravni in sintetični polimeri v različnih oblikah – vlaknaste strukture, porozne gobice, hidrogeli.¹⁹ Najpogosteje uporabljeni hidrogeli so agarozni gel,²⁰ alginat,^{18, 21, 25} fibrin²² in hitozan.²³ Hidrogeli nastanejo z zamreženjem vodotopnih polimerov v vodoodporne mrežaste strukture. Zaradi velike vsebnosti vode, ki služi za prenos hranil in odpadnih snovi, elastičnosti ter sposobnosti imobilizacije celic v tridimenzionalnem okolju *in situ*, so izredno primerni za različne tkivnoinženirske aplikacije. Na Sliki 2 so prikazani pripravki hon-

drocitov v alginatnem hidrogelu. Slaba stran gojenja hondrocitov v tridimenzionalnih kulturah je njihova sposobnost razmnoževanja. V primerjavi z enoslojnimi kulturnimi sistemi je bistveno slabša. Glede na to je potrebno najti nek kompromis med uspešnostjo razmnoževanja celic, potrebnih za ACI, in stopnjo diferenciacije, ki je še sprejemljiva za tkivno inženirstvo sklepnega hrustanca.²⁴



Sl. 1. Morfološka razlika med hondrociti v enoslojni celični kulturi (A) ter hondrociti v hidrogelu (B).

Figure 1. Morphological difference between chondrocytes in one-layer cell culture (A) and chondrocytes in hydrogel (B).



Sl. 2. Pripravki iz hondrocitov in alginatnega hidrogela.

Figure 2. Preparations from chondrocytes and alginate hydrogel.

Drugi viri celic

Poleg običajnega vira celic, tj. biopsijskega vzorca hrustančnega tkiva, sta za popravilo hrustanca s celičnim zdravljenjem oziroma tkivnim inženirstvom primerna (teoretično) še dva tipa matičnih celic: odrasle mezenhimske matične celice in embrionalne matične celice. Mezenhimske matične celice pridobimo iz kostnega mozga ali maščobnega tkiva. Pod vplivom različnih rasti dejavnikov in drugih signalnih molekul so se sposobne diferencirati v različne celične tipe, med njimi tudi v hondrocite. Čeprav je večina potekajočih raziskav še v preliminarnih fazah, so obeti za uporabo mezenhimskih matičnih celic v prihodnosti veliki.²⁵ Ogromen potencial za številne oblike celičnega zdravljenja so tudi embrionalne matične celice, vendar njihova uporaba v klinične namene predvsem zaradi etičnih zadržkov zaenkrat ni možna.

Zaključki

Najnovejša obširna raziskava, v kateri je sodelovalo 285 ortopedskih kirurgov iz 46 držav, je primerjala pogostost in uspešnost različnih načinov zdravljenja hrustanca.²⁶ Ugotovili so, da se 70 % zdravnikov, ki se ukvarja s poškodbami hrustanca, strinja s trditvijo, da

se pri mlajših osebah s poškodbami hrustanca zelo verjetno kasneje razvije osteoartritis. Pri takšnih bolnikih bi torej morali primarno preprečevati razvoj osteoartritisa, kar pomeni ustrezno zdravljenje poškodbe. Anketa je pokazala tudi, da je najpogostejša uporabljena kirurška metoda stimulacija kostnega mozga z mikrofrakturacijo oziroma mikrofrakturiranje v kombinaciji z mozaično plastiko. Večina kirurgov se strinja, da je učinkovitost metode ACI na daljši rok uspešnejša od mikrofrakturiranja predvsem pri izgradnji hialinega tipa hrustanca namesto fibroznega tkiva, čeprav trdnih znanstvenih dokazov do danes še nimamo. Ob izbiri metode ACI za zdravljenje hrustanca sta kirurgom najpomembnejša dejavnika možen vpogled v dokazane klinične rezultate in prospektivne randomizirane študije ter kakovost hondrocitov (visok potencial za tvorbo hialinega hrustanca), pripravljenih za operacijo. Izziv celičnega zdravljenja ostajajo torej še naprej izbira vira celic, priprava nosilnega materiala in potencialno biološko stimuliranje celic. Uspešnost obnovitve oziroma zamenjava poškodovanega hrustanca bo odvisna od napredka našega razumevanja in poznavanja biologije hrustančnega tkiva, matičnih celic ter samega tehnološkega razvoja inženirstva.

Literatura

1. Curl WW, Krome J, Gordon ES, Rushing J, Smith BP, Poehling GG. Cartilage injuries: a review of 31,516 knee arthroscopies. *Arthroscopy* 1997; 13: 456-60.
2. Buckwalter JA. Articular cartilage injuries. *Clin Orthop* 2002; 402: 21-37.
3. Hunziker EB. Articular cartilage repair: basic science and clinical progress. A review of the current status and prospects. *Osteoarthritis Cartilage* 2002; 10: 432-63.
4. Hunziker EB. The different types of chondrocytes and their function in vivo. In: *Biological regulation of the chondrocytes*. Adolphe M, ed. Boca Raton: CRC Press; 1996.
5. Savarese J, Erickson J, Scully H. Articular chondrocyte tenascin-C production and assembly into de novo extracellular matrix. *J Orthop Res* 1996; 14: 273-81.
6. Buckwalter JA, Mankin HJ. Articular cartilage - Part I: Tissue design and chondrocyte-matrix interactions. *J Bone Joint Surg* 1997; 79A, 4: 600-11.
7. Buckwalter JA, Mankin HJ. Articular cartilage - Part II. Degeneration and osteoarthritis, repair, regeneration, and transplantation. *J Bone Joint Surg* 1998; 79A: 612-32.
8. Newman A. Articular cartilage repair. *Am J Sports Med* 1998; 26: 309-24.
9. Poole AR. Imbalances of anabolism and catabolism of cartilage matrix components in osteoarthritis. In: Kuettner KE, Goldberg B, eds. *Osteoarthritic disorders*. Rosemont: AAOS; 1995. p. 247-60.
10. Shapiro F, Koide S, Glimcher MJ. Cell origin and differentiation in the repair of full-thickness defects of articular cartilage. *J Bone Joint Surg* 1993; 75A: 532-53.
11. Jackson DW, Lalor PA, Aberman HM, Simon TM. Spontaneous repair of full-thickness defects of articular cartilage in a goat model - a preliminary study. *J Bone Joint Surg* 2001; 83A: 53-64.
12. Chen FS, Frenkel SR, DiCesare PE. Repair of articular cartilage defects. Part II. Treatment options. *Am J Orthop* 1999; 28: 88-96.
13. Lattermann C, Kang RW, Cole BJ. What's new in the treatment of focal chondral defects of the knee? *Orthopedics* 2006; 29: 898-903.
14. Trattinnig S, Millington SA, Szomolanyi P, Marlovits S. MR imaging of osteochondral grafts and autologous chondrocyte implantation. *Eur Radiol* 2007; 17: 103-18.
15. Brittberg M, Lindahl A, Nilsson A, Ohlsson C, Isaksson O, Peterson L, et al. Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation. *N Engl J Med* 1994; 331: 889-95.
16. Benya PD, Scaffer JD. Dedifferentiated chondrocytes reexpress the differentiated collagen phenotype when cultured in agarose gels. *Cell* 1982; 30: 215-24.
17. Wong M, Hunziker EB. Articular cartilage biology and mechanics. *Sports Med Arthroscopy Rev* 1998; 6: 4-12.
18. Barlič A, Radosavljevič D, Drobnič M, Kregar-Velikonja N. Advancing in the quality of the cells assigned for autologous chondrocyte implantation (ACI) method. In: Jarm T, Kramar P, Župančič A, eds. *11th Mediterranean Conference on Medical and Biological Engineering and Computing 2007*, 26-30 June, 2007, Ljubljana, Slovenia (IFMBE proceedings, vol. 16). New York: Springer: International Federation for Medical and Biological Engineering; 2007.
19. Kuo CK, Li WJ, Mauck RL, Tuan RS. Cartilage tissue engineering: its potential and uses. *Curr Opin Rheumatol* 2006; 18: 64-73.
20. Hunziker EB. Articular cartilage repair: basic science and clinical progress. A review of the current status and prospects. *Osteoarthritis Cartilage* 2001; 10: 432-63.
21. Barlič A, Drobnič M, Malicev E, Kregar-Velikonja N. Quantitative analysis of gene expression in human articular chondrocytes assigned for autologous implantation. *J Orthop Res* 2008; v tisku.
22. Malicev E, Radosavljevič D, Velikonja NK. Fibrin gel improved the spatial uniformity and phenotype of human chondrocytes seeded on collagen scaffolds. *Biotechnol Bioeng* 2007; 1: 96: 364-70.
23. Madhally SV, Matthew HW. Porous chitosan scaffolds for tissue engineering. *Biomaterials* 1999; 20: 1133-42.
24. Grunder T, Gaismaier C, Fritz J, Stoop R, Hortschansky P, Mollenhauer J, Aicher WK. Bone morphogenetic protein (BMP)-2 enhances the expression of type II collagen and aggrecan in chondrocytes embedded in alginate beads. *Osteoarthritis Cartilage* 2004; 12: 559-67.
25. Caplan AI. Review: mesenchymal stem cells: cell-based reconstructive therapy in orthopedics. *Tissue Eng* 2005; 11: 1198-211.
26. Verdonk R, Steinwachs M, Vanlauwe J, Engebretsen L. Trends in cartilage repair; 2006: 1-16. Dosegljivo na: URL: http://www.tigenix.com/download/Trends_in_cartilage_repair.pdf [accessed June 20, 2007].

Prispelo 2007-09-24, sprejeto 2007-11-15