

Баграташвили В.Н.
Басков А.В.
Борщенко И.А.
Игнатьева Н.Ю. и др.

Лазерная инженерия хрящей



МОСКВА
ФИЗМАТЛИТ ®

УДК 681.7
ББК 53.54, 54.54
Л 17

Авторский коллектив:

В.Н. Баграташвили, А.В. Басков, И.А. Борщенко, Н.Ю. Игнатьева,
Ю.М. Овчинников, А.И. Омельченко, А.П. Свиридов, В.М. Свистушкин,
Э.Н. Соболев, А.Б. Шехтер

Лазерная инженерия хрящей / Под ред. В.Н. Баграташвили, Э.Н. Соболева, А.Б. Шехтера. — М.: ФИЗМАТЛИТ, 2006. — 488 с. — ISBN 5-9221-0729-1.

В книге впервые дан обзор результатов междисциплинарных исследований процессов релаксации напряжений и регенерации хрящевой ткани под действием лазерного излучения, которые привели к созданию принципиально новых медицинских технологий и оборудования для лечения деформированных и поврежденных хрящей путем неразрушающего лазерного воздействия на структуру и поле механических напряжений в биологических тканях.

Книга предназначена широкому кругу различных специалистов: ученым — физикам, химикам, биологам, — занимающимся фундаментальными процессами лазерного воздействия на биологические системы и разрабатывающим новые методы в биологии и медицине; врачам — отоларингологам, пластическим хирургам, косметологам, ортопедам, спинальным хирургам, — использующим или планирующим применять новые малоинвазивные технологии для лечения хрящей; инженерам, работающим в области лазерной медицинской техники и технологии.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ	7
Глава I. ХРЯЩЕВАЯ ТКАНЬ	13
1.1. Введение к главе I	13
1.2. Общие представления о структуре и функции хряща	14
1.3. Морфология, биохимия, функция хряща	15
1.3.1. Гиалиновый хрящ (15). 1.3.2. Эластический хрящ (37).	
1.3.3. Волокнистый (фиброзный) хрящ (39).	
1.4. Особенности строения хрящей в различных анатомических структурах	40
1.4.1. Суставной хрящ (41). 1.4.2. Межпозвоночный диск (43).	
1.4.3. Хрящ ушной раковины (52). 1.4.4. Хрящ перегородки носа (55).	
1.5. Механобиология хряща	57
1.5.1. Влияние механических нагрузок на метаболизм хряща (57). 1.5.2. Деформации и вязкоупругое поведение хондроцитов (60). 1.5.3. Механизмы механотрансдукции в хрящах (66). 1.5.4. Направления современных исследований механо-трансдукции в хряще (68).	
1.6. Регенерация хряща и тканевая инженерия	71
1.6.1. Особенности регенерации хряща (71). 1.6.2. Подходы к управляемой регенерации хряща, тканевая инженерия (75).	
1.7. Заключительные замечания к главе I	78
Список литературы	81
Глава II. ЛАЗЕРЫ И ВОЗДЕЙСТВИЕ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА БИОТКАНИ	95
2.1. Введение к главе II	95
2.2. Основы оптики и спектроскопии	96
2.2.1. Оптическое излучение (96). 2.2.2. Тепловое излучение (98). 2.2.3. Нетепловое излучение (100). 2.2.4. Оптические материалы и элементы (103). 2.2.5. Методы оптической спектроскопии (110).	
2.3. Лазерные источники излучения	114
2.3.1. Основные принципы работы лазеров и свойства лазерного излучения (114). 2.3.2. Лазерные системы, используемые в медицине (118). 2.3.3. Меры безопасности при работе с лазерами (132).	
2.4. Оптика биотканей	133
2.4.1. Распространение оптического излучения в биотканях (134). 2.4.2. Показатель преломления биотканей (135). 2.4.3. Поглощение света в биотканях (136). 2.4.4. Рассеяние света в биотканях (137). 2.4.5. Глубина проникновения света в биоткани (139).	

2.5. Воздействие лазерного излучения на биоткани	141
2.5.1. Типы лазерного воздействия на биоткани (142).	
2.5.2. Лазерная термомодификация биотканей (148).	
2.5.3. Температурные поля при лазерном нагреве биотканей (155).	
2.6. Заключительные замечания к главе II	167
Список литературы	169
Глава III. ЛАЗЕРНО-ИНДУЦИРОВАННАЯ РЕЛАКСАЦИЯ НАПРЯЖЕНИЙ И ИЗМЕНЕНИЕ ФОРМЫ ХРЯЩЕЙ	175
3.1. Введение к главе III	175
3.2. Лазерное воздействие на структуру хрящевой ткани	178
3.2.1. Нагрев и структурные изменения в хрящевой ткани (178).	
3.2.2. Моделирование процессов лазерного нагрева и структурных изменений хрящевой ткани (187).	
3.3. Лазерно-индуцированное изменение физических свойств хрящей	194
3.3.1. Массо- и теплоперенос в хрящах при лазерном нагреве (194).	
3.3.2. Механика и акустика хрящей при лазерном нагреве (202).	
3.3.3. Лазерно-индуцированное изменение оптических свойств хрящей (217).	
3.4. Термохимические изменения в хрящевой ткани	236
3.4.1. Лазерно-индуцированная денатурация коллагена в хряще (237).	
3.4.2. Лазерно-индуцированное изменение протеогликановой подсистемы (247).	
3.4.3. Модификация надмолекулярной структуры хряща (249).	
3.5. Механизмы лазеро-индуцированной релаксации напряжений и управляемого изменения формы хрящевой ткани	256
3.5.1. Ключевая роль воды (256).	
3.5.2. Локальная минерализация (258).	
3.5.3. Локальное плавление протеогликанов (260).	
3.5.4. Влияние пространственных неоднородностей структуры и свойств хрящевой ткани на процессы лазеро-индуцированной релаксации напряжений (261).	
3.5.5. Старые идеи и новые предположения о том, что происходит при лазерном изменении формы хрящей (265).	
3.6. Заключительные замечания к главе III	269
Список литературы	272
Глава IV. ЛАЗЕРНАЯ ИНЖЕНЕРИЯ ЖИВЫХ ТКАНЕЙ	279
4.1. Введение к главе IV	279
4.2. Лазерное изменение формы перегородки носа	280
4.2.1. Неконтролируемое изменение формы хрящевой ткани при лазерном облучении (281).	
4.2.2. Жизнеспособность хондроцитов при лазерном нагреве хряща перегородки носа (284).	
4.3. Лазерное изменение формы трахеи	286
4.3.1. Эксперименты <i>ex vivo</i> (286).	
4.3.2. Эксперименты <i>in vivo</i> (287).	

4.4. Лазерная термопластика хряща ушной раковины	290
4.4.1. Исследования на кроликах (291). 4.4.2. Исследования на свиньях (299).	
4.5. Лазерное воздействие на суставные хрящи	308
4.5.1. Экспериментальные процедуры и методы анализа (309).	
4.5.2. Эксперименты с гольмиевым лазером (310). 4.5.3. Эксперименты с эрбиевым волоконным лазером (314). 4.5.4. Сравнение результатов воздействия гольмиевого и эрбиевого волоконного лазеров (316).	
4.6. Лазерное воздействие на хрящи межпозвонковых дисков	318
4.6.1. Процедуры лазерного воздействия на межпозвонковые диски кролика <i>in vivo</i> (318). 4.6.2. Макроскопические изменения в межпозвонковых дисках (319). 4.6.3. Микроскопические изменения в межпозвоночных дисках (321).	
4.7. Лазерно-индуцированная регенерация хряща	328
4.7.1. Эффекты лазерно-индуцированной регенерации хряща (328). 4.7.2. Механизмы лазерно-индуцированной регенерации хряща (331).	
4.8. Заключительные замечания к главе IV	335
Список литературы	337
Глава V. ЛАЗЕРНАЯ КОРРЕКЦИЯ ФОРМЫ ХРЯЩА ПЕРЕГОРОДКИ НОСА	342
5.1. Введение к главе V	342
5.2. Проблема деформаций перегородки носа	344
5.2.1. Анатомия и физиология носа (344). 5.2.2. Деформация перегородки носа и ее патогенетическое влияние на состоянии разных органов и систем (347). 5.2.3. Этиология, распространенность, виды деформаций перегородки носа (349). 5.2.4. Способы коррекции деформаций перегородки носа (351). 5.2.5. Возрастные аспекты коррекции перегородки носа (356).	
5.3. Методика и аппаратура для лазерной септохондрокоррекции	357
5.3.1. Этапы проведения операции лазерной септохондрокоррекции (358). 5.3.2. Аппаратура для лазерной септохондрокоррекции (360).	
5.4. Лазерная септохондрокоррекция как метод восстановления носового дыхания при деформации перегородки носа	363
5.4.1. Характеристика больных и методы обследования (363).	
5.4.2. Клинические проявления при деформации перегородки носа (365). 5.4.3. Показания и противопоказания к проведению лазерной септохондрокоррекции (365). 5.4.4. Классификация деформаций хряща перегородки носа (368). 5.4.5. Подготовка к лазерной септохондрокоррекции (370). 5.4.6. Обезболивание (372). 5.4.7. Техника проведения лазерной септохондрокоррекции (373). 5.4.8. Лазерная септохондрокоррекция с использованием эрбиевого волоконного лазера (376). 5.4.9. Послеоперационный период (376). 5.4.10. Метод лазерного изменения формы хряща при проведении традиционной септопластики (378).	

5.5. Результаты лечения деформаций перегородки носа с помощью лазерного излучения	381
5.5.1. Ближайшие и отдаленные результаты лазерной септохондрокоррекции (381). 5.5.2. Лазерная септохондрокоррекция у детей и подростков (387). 5.5.3. Лазерная септохондрокоррекция у больных, ранее перенесших операцию на перегородке носа (391). 5.5.4. Данные оптической когерентной томографии (395). 5.5.5. Гистологическое исследование у больных после лазерной септохондрокоррекции (399). 5.5.6. Септопластика с реимплантацией фрагмента четырехугольного хряща перегородки носа, выпрямленного лучом лазера (403).	
5.6. Заключительные замечания к главе V	405
Список литературы	407
Глава VI. ЛАЗЕРНАЯ РЕКОНСТРУКЦИЯ МЕЖПОЗВОНКОВЫХ ДИСКОВ	423
6.1. Введение к главе VI	423
6.2. Анатомо-физиологические особенности и патогенез дегенеративного поражения межпозвонковых дисков	426
6.2.1. Анатомия и физиология позвоночника (426). 6.2.2. Анатомия межпозвонкового диска (431). 6.2.3. Клетки и межклеточный матрикс межпозвонкового диска (432). 6.2.4. Кровообращение межпозвонкового диска (435). 6.2.5. Роль апоптоза (435). 6.2.6. Механические нагрузки межпозвонкового диска и воспалительный ответ (436). 6.2.7. Грыжа межпозвонкового диска (437).	
6.3. Диагностика дегенеративного поражения межпозвонковых дисков	438
6.3.1. Рентгенологическое исследование (439). 6.3.2. Компьютерная томография (КТ) (439). 6.3.3. Магнитно-резонансная томография (440). 6.3.4. Дискография (441).	
6.4. Развитие методов минимально инвазивного лечения дегенеративного поражения межпозвонковых дисков	444
6.4.1. Методы открытого хирургического вмешательства (444). 6.4.2. Пункционные и эндоскопические методы лечения (445).	
6.5. Лазерные технологии в хирургическом лечении дегенеративных поражений межпозвонковых дисков	448
6.6. Поиск безопасных параметров лазерной реконструкции дисков <i>ex vivo</i>	452
6.7. Клиническое применение лазерной реконструкции межпозвонковых дисков	455
6.7.1. Концепция отбора пациентов для лазерной реконструкции дисков (456). 6.7.2. Техника пункции шейных и поясничных межпозвонковых дисков (456). 6.7.3. Результаты пункционной лазерной реконструкции дисков (458). 6.7.4. Результаты применения ЛРД в сочетании с дискэктомией (467).	
6.8. Заключительные замечания к главе VI	470
Список литературы	473
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	481

ПРЕДИСЛОВИЕ

*«Что мы знаем о лисе?
Ничего. И то не все.»*

Борис Заходер

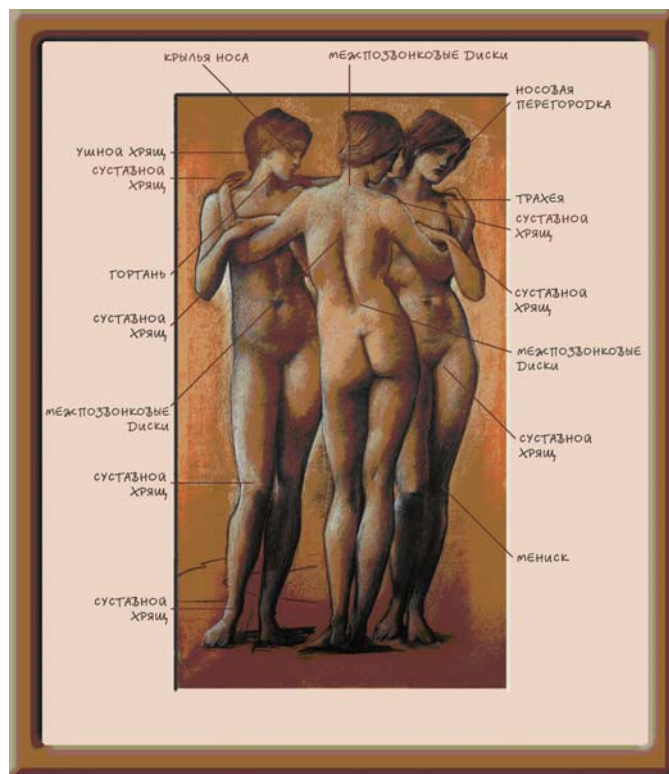
Сегодня лазерные технологии все шире внедряются в различные отрасли медицинской науки и практики. Темпы внедрения лазеров в медицину настолько велики, что современная медицина стала одним из главнейших потребителей лазерной техники, значительно опередив многие другие отрасли человеческой деятельности, даже такие, как обработка материалов. Более того, именно потребности медицины стимулировали разработку целого ряда новых лазерных систем. Кроме того, они дали новый мощный импульс исследованиям процессов взаимодействия лазерного излучения со сложными системами, такими, как биологические ткани. Такие исследования сейчас широко ведутся во многих передовых лабораториях мира.

Лазеры предоставляют широкие возможности воздействия на биологические ткани путем выбора длины волны излучения, длительности воздействия и плотности энергии на их поверхности. Так, например, при одних наборах указанных параметров лазерное излучение служит терапевтическим инструментом широкого профиля, в то время как при других — лазерное излучение используется для осуществления хорошо контролируемого удаления ткани или коагуляции.

Что такое лазер — сегодня знает любой школьник, но что мы знаем о хряще? *Хрящевая ткань* является одной из самых древнейших биологических тканей. Она служит в организме человека для соединения и взаимного крепления различных тканей и органов, является амортизатором, обеспечивающим функционирование организма при движении в условиях внешних нагрузок. В хрящах отсутствуют кровеносные сосуды, и питание клеток хряща — хондроцитов осуществляется путем диффузионного переноса воды с растворенными в ней питательными веществами.

Характерные особенности структуры и механических свойств хрящевой ткани обеспечивают прочность и упруго-эластические свойства хряща, что и обуславливает его уникальные биомеханические свойства — способность выдерживать высокие механические (статические и динамические) нагрузки. Молодая и здоровая хрящевая ткань обладает потенциальной способностью к регенерации и развитию. В человеческих эмбрионах около 40% массы — это хрящевая ткань, которая в процессе развития превращается в другие ткани: в кости, сухожилия. После завершения роста организма в опорно-двигательном аппарате хрящ встречается в тех участках, которые испытывают наибольшую статическую и динамическую нагрузку: в суставах, межпозвоночных дисках и области соединения ребер с грудиной. Вне-скелетные хрящи

в носовой перегородке, гортани, трахеи и бронхах, фиброзных треугольниках сердца, евстахиевых трубах, ушных раковинах также несут опорную (каркасную) функцию.



Три грации
Sir Edward Coley Burne-Jones (1833–1893)
Дополнено авторами (2004)

Хрящ — прекрасный природный материал для трансплантации. В нем отсутствуют нервы и кровеносные сосуды, минимальны иммунные реакции, почти никогда не бывает злокачественных опухолей. Врачи начали использовать хрящи в качестве трансплантатов в начале XX в. Проблема состоит в том, что трудно изготовить хрящ нужной формы. Если вырезать какую-нибудь конфигурацию скальпелем, то эта конфигурация не будет стабильной из-за присущих хрящу больших внутренних механических напряжений и из-за свойства памяти формы.

Проведем простой мысленный эксперимент: согнем пальцами свое ухо — это хрящ, покрытый кожей. Согнуть ухо легко, но если отпустить руку, хрящ вернется к исходной форме под действием внутренних механических напряжений. Оказывается, что изменить форму хряща можно с помощью *хорошо контролируемого, кратковременного лазерного нагрева*, при котором не успевают произойти денатурация и повреждения ткани, а *механические напряжения значительно уменьшаются*. Этот процесс лазерно-индуцированной релаксации напряжений приводит к управляемому изменению формы хряща. Эффект релаксации напряжений в хрящевой ткани при неразрушающем лазерном нагреве был открыт одним из авторов книги, специалистом в области материаловедения и взаимодействия лазерного излучения с веществом (Эмилом Соболев) в 1992 г. В исследовательскую группу вошли специалисты в области спектроскопии и лазерной химии (В. Н. Баграташвили), лазерной оптики (А. П. Свиридов), термомеханики (А. И. Омельченко), морфологии биологических тканей (А. Б. Шехтер), физической химии (Н. Ю. Игнатьева), а также врачи-отоларингологи (Ю. М. Овчинников, В. М. Свистушкин) и спинальные хирурги (А. В. Басков, И. А. Борщенко). Именно творческое взаимодействие различных специалистов позволило получить значительную часть описанных в книге результатов, да и сама книга является результатом такого взаимодействия.

Междисциплинарный коллектив более 12 лет работает над изучением явлений релаксации напряжений и регенерации хрящевой ткани под действием лазерного излучения, над созданием технологии и специализированного оборудования для лечебного лазерного воздействия на деформированные и поврежденные хрящи. После проведения экспериментов на животных и клинической апробации метод лазерной коррекции формы нашел применение в практической медицине — для *коррекции формы деформированных хрящей носовой перегородки*.

Искривление перегородки носа — довольно распространенная проблема. Более 20% населения земли имеют деформацию перегородки носа, что приводит к появлению целого комплекса проблем, от нарушения адекватного дыхания носом до развития различных форм хронического насморка, храпа, заболеваний различных отделов дыхательных путей и рефлекторных головных болей. Хирургическое исправление формы перегородки носа — одна из самых распространенных операций в практике ЛОР-врача в настоящее время. Обычная операция травматична, сопровождается кровопотерей, необходимостью проведения инфильтративной анестезии или наркоза, длительным периодом послеоперационного лечения в стационаре и реабилитации в домашних условиях. Многие люди нуждаются в исправлении перегородки носа, но не хотят делать такую операцию без крайней необходимости.

Мы заменили травматичную операцию на простое и безболезненное воздействие, которое занимает 10 минут и может проводиться

в амбулаторных условиях. С 1998 по 2005 г. более чем 250 больным провели исправление перегородки носа с помощью нового лазерного метода. Разработано специализированное оборудование, которое делает эту процедуру эффективной и абсолютно безопасной. До 2005 г. операции проводились только в одной клинике — ММА им. Сеченова. В ближайшее время планируется начать широкое распространение нового метода и специализированного лазерного оборудования в других клиниках России и за рубежом.

Другое направление наших исследований и разработок — *активация восстановительных процессов в поврежденных хрящах межпозвоноковых дисков*. С возрастом хрящи теряют заложенную в них способность к регенерации и восстановлению. Заболевания хрящей — артриты, артрозы, боли в спине, связанные с разрушением межпозвоноковых дисков и нестабильностью позвоночника, принадлежат к наиболее распространенным заболеваниям. Считается, что после 40 лет у человека не бывает абсолютно здорового позвоночника — это наша плата за прямохождение. Лечение заболеваний позвоночника занимают во всем мире. Применяют специальные упражнения, сильнодействующие лекарства, обезболивание, делают серьезные и очень дорогие операции, пересаживают донорские клетки, фиксируют поврежденные позвонки поддерживающими металлическими конструкциями.

В книге рассмотрен новый подход к лечению хрящей позвоночника — *контролируемая регенерация* хрящевой ткани путем локального, хорошо контролируемого лазерного воздействия облучения, позволяющего вернуть хрящу его природную способность к регенерации. При этом нет необходимости вводить в хрящ ничего постороннего. Лазерное воздействие при определенных, найденных нами режимах вызывает активацию хрящевых клеток, которые перестали нормально функционировать. Это позволяет выращивать молодой здоровый хрящ в разрушенном межпозвоноковом диске. С 2001 по 2005 г. более 200 больных прооперировано новым методом. Операция занимает не более получаса, не требует общего наркоза и может проводиться даже в амбулаторных условиях. Эта новая медицинская технология дает очень хорошие результаты. Почти все наши пациенты избавились от боли, вернулись к работе, нормальной жизни, включая занятия спортом.

Практическому применению новых методов лазерной инженерии хрящей предшествовали многолетние междисциплинарные исследования процессов взаимодействия лазерного излучения с хрящами разного типа. Основные результаты этих исследований изложены в настоящей книге. При этом следует прямо сказать, что мы находимся в начале пути. Несмотря на хорошие клинические результаты, многие вопросы находятся еще в стадии изучения и оптимизации, требуют применения новейших диагностических методов.

Механизмы лазеро-индуцированной релаксации напряжений и особенно лазерной регенерации хрящевой ткани изучены не полностью. В книге делается попытка анализа существующих представлений о механизмах и путях дальнейшего развития новых методов лазерной

инженерии хрящей. При этом рассматриваются различные физические, химические и биологические явления в хрящах, по которым не во всех случаях выработана общая терминология и единая точка зрения (в частности, фазовые переходы, процессы денатурации, механизмы релаксации напряжений, механизмы регенерации ткани). Разногласие различных авторов (в том числе, авторов данной книги) носит зачастую терминологический, методический или дисциплинарный характер. Так, например, для процессов денатурации химики и биологи дают разные определения. Те процессы, которые физики рассматривают как фазовые переходы, химики часто анализируют как химические реакции. В книге описаны новые процессы, для которых выбор терминологии зачастую отражает опыт и точку зрения авторов. Нас интересуют общие закономерности, характерные для процессов модификации хрящевой ткани под действием лазерного излучения. Понимая ограниченность и риск всяких аналогий, мы стараемся выявить и использовать такие аналогии там, где это нам представляется возможным и оправданным. При этом каждый отдельный подход имеет свои ограничения и может не дать исчерпывающего описания реального процесса, который может проходить в несколько стадий, каждая из которых, вообще говоря, требует отдельного рассмотрения. Нам представляется, что позволяющий взглянуть на картину с разных точек зрения стереоскопический подход, использующий разные приближенные (хоть и несовершенные) модели, может оказаться в такой ситуации продуктивным.

Все знают библейскую историю о том, как первая женщина Ева была создана из ребра первого мужчины Адама. Не вдаваясь в дискуссии о происхождении и о достоверности данной истории, выскажем предположение, касающееся ее сути. Мы полагаем, что если такой творческий акт имел место, то исходным материалом (для удивительного создания природы — женщины) могла быть не кость, а реберный хрящ. Мы надеемся, что, прочитав эту книгу, читатель если и не согласится с нами, то, по крайней мере, узнает, что-то новое и интересное. Данную книгу можно рассматривать как введение в проблему, как первый путеводитель в малоисхоженной местности для тех, кто занимается исследованиями и разработкой новых методов в медицине, и кто хочет применить их в практической деятельности.

Мы постарались сделать книгу полезной для максимально широкого круга различных специалистов. Мы адресуем ее: ученым (физикам, химикам, биологам), занимающимся фундаментальными процессами лазерного воздействия на биологические системы и разрабатывающим новые методы в биологии и медицине; врачам (отоларингологам, пластическим хирургам, косметологам, ортопедам, спинальным хирургам), использующим или планирующим применять новые малоинвазивные технологии для лечения хрящей; инженерам, работающим в области лазерной медицинской техники и технологии. Поэтому, мы включили в книгу определенный справочный материал, облегчающий восприятие, но, естественно не претендующий на полноту изложения. Авторский коллектив, включающий специалистов в области физики,

химии, биологии и медицины, работает вместе в течение многих лет, и *мульти-дисциплинарный* характер книги является ее принципиальной особенностью. Мы прекрасно понимаем, что объединение под одной обложкой столь разнородного материала, адресованного столь различным читателям, является заведомо уязвимым делом и не может не стать объектом для критики.

Книга основана, прежде всего, на результатах исследований, в которых авторы принимали непосредственное участие. При этом, хотя мы старались дать обобщение опубликованных результатов в данной быстро развивающейся области, некоторые вопросы лазерной инженерии хрящевой ткани остались за пределами подробного рассмотрения. Мы отдаем себе отчет в неизбежности неполноты изложения материала и других более серьезных недочетов, и будем признательны за любые замечания и дополнения.

Глава I написана А. Б. Шехтером и В. Н. Баграташвили, глава II — В. Н. Баграташвили, А. П. Свиридовым и Э. Н. Соболев, глава III — Э. Н. Соболев, В. Н. Баграташвили, А. П. Свиридовым, А. Б. Шехтером, Н. Ю. Игнатъевой и А. И. Омельченко, глава IV — В. Н. Баграташвили, Э. Н. Соболев, А. Б. Шехтером, А. В. Басковым, Ю. М. Овчинниковым, В. М. Свистушкиным и И. А. Борщенко, глава V — Ю. М. Овчинниковым, В. М. Свистушкиным и А. Б. Шехтером, и глава VI — А. В. Басковым, И. А. Борщенко, А. Б. Шехтером и Э. Н. Соболев. Предисловие и заключение написаны редакторами.

Авторы глубоко признательны за многолетнее плодотворное сотрудничество в области лазерной инженерии хрящей своим коллегам Э. Хелидонису, Н. Н. Воробьевой, О. Л. Захаркиной, В. Я. Панченко, С. И. Цыпиной, М. С. Китаю, Н. В. Баграташвили, Г. Н. Никифоровой, В. А. Баскову, С. В. Желвакову, Е. Т. Белобородову, Л. Л. Силину, Г. Ш. Шах, А. М. Дыхне, А. А. Карабутову, В. В. Лунину, Ю. Н. Житневу, В. В. Зосимову, Е. В. Луниной, С. В. Аверкиеву, С. А. Баранову, Е. С. Янцен, Д. А. Зимнякову, Ф. И. Фельдштейну, В. А. Каменскому, Р. В. Куранову, А. В. Захарченко, В. Ю. Сандлеру, В. В. Савельеву, Б. Н. Клименко, Ю. С. Заворотному, В. П. Гапонцеву, И. Э. Самарцеву, В. П. Минаеву, В. М. Плотникову, Т. Милнеру, Б. Вонгу, С. Хардингу, К. Джумель, Н. Джонесу, М. Полякову, С. Хоудлу, И. Наумиди, А. Серафетинидесу, В. Помпе, М. Мэртигу, А. Шнирельману, С. Мордону, Г. Эдвардсу, М. Горину.

Авторы выражают глубокую благодарность О. Л. Захаркиной, Л. Н. Кротовой, О. И. Баум, С. И. Цыпиной, А. А. Новицкому за помощь в подготовке иллюстраций и оформлении рукописи.

Авторы благодарят за финансовую поддержку Российский Фонд Фундаментальных исследований, Фонд поддержки малых форм предприятий в научно-технической сфере, Британский Совет, ИНТАС, АФГИР.

ГЛАВА I

ХРЯЩЕВАЯ ТКАНЬ

*« Я кажусь себе мальчиком,
подбирающим красивые ра-
кушки на берегу, тогда как
вокруг простирается огром-
ный океан непознанного. »*

Исаак Ньютон

1.1. Введение к главе I

Трудно переоценить роль хрящевой ткани в целом и ее локальных разновидностей в физиологии опорно-двигательной системы, в патогенезе и клинике разнообразных ревматических и хирургических заболеваний. Постоянно растущие технические возможности оперативного лечения, фармакотерапии, клеточной терапии, воздействие биоактивных физических факторов (в том числе лазерного излучения) настоятельно диктуют необходимость изучения и адекватной оценки биологических потенций хряща, в том числе его уникальных биомеханических свойств, способностей к регенерации и изменению формы.

Хондрология (наука о хрящевой ткани) становится самостоятельным и важным разделом в биологии и медицине. Об этом свидетельствуют значительные достижения последних десятилетий в области морфологии и биомеханики хряща, изучении реактивных и репаративных свойств хрящевой ткани при воспалительных и дистрофических процессах, травматических повреждениях, значительный рост литературы по этим проблемам, а также внимание к ним на международных научных форумах.

В настоящей главе рассматриваются вопросы морфологии, биохимии и механобиологии хряща в свете единства функциональных особенностей ткани с ее структурой на всех уровнях организации от молекулярного до тканевого.

В разд. 1.2 этой главы мы дадим общие представления о структуре и функциях хряща в организме человека и животных. Морфология, биохимия и функции хрящей различного типа (гиалиновый хрящ, эластический хрящ, волокнистый хрящ) будут рассмотрены в разд. 1.3. Среди них особое внимание уделено гиалиновому хрящу, как наиболее распространенному в человеческом организме. Будут рассмотрены вопросы развития гиалинового хряща, свойства клеток хряща — хон-

дроцитов. Далее будет приведена молекулярная структура и архитектура хряща, структура межклеточного матрикса и его химических компонентов (коллаген, протеогликаны, гликопротеины), надмолекулярная организация матрикса. Затем будут рассмотрены вопросы питания и метаболизма хрящевой ткани. Раздел 1.4 посвящен анализу структуры и функции хрящей конкретной локализации в организме человека, таких как суставные хрящи, хрящи межпозвоночного диска (пульпозное ядро и фиброзное кольцо), хрящ ушной раковины, хрящ носовой перегородки. В последующих главах книги рассматривается воздействие лазерного излучения на все эти типы хрящей. В разд. 1.5 рассмотрен один из наиболее важных, и в то же время, один из наименее изученных вопросов современной хондрологии — механобиология хряща. Здесь, прежде всего, проанализированы известные данные по влиянию статических и динамических механических нагрузок на деформацию матрикса и хондроцитов и на метаболизм хряща. Затем приведены различные потенциальные механизмы, ответственные за механо-трансдукцию в хрящах, а также направления современных исследований в этой области. Раздел 1.6 посвящен важнейшей проблеме хондрологии — репаративной регенерации хрящевой ткани. Здесь проанализированы возможности регенерации хряща, ее основные закономерности, а также различные современные подходы к решению проблемы регенерации хряща, актуальнейшей проблемы современной восстановительной медицины.

1.2. Общие представления о структуре и функции хряща

Хрящевая ткань является одной из разновидностей соединительной ткани и относится к плотной соединительной ткани с опорной функцией. После завершения роста организма в опорно-двигательном аппарате хрящ встречается в тех участках, которые испытывают наибольшую статическую и динамическую нагрузку: в суставах, межпозвоночных дисках и области соединения ребер с грудиной. Внескелетные хрящи в носовой перегородке, гортани, трахее и бронхах, фиброзных треугольниках сердца, евстахиевых трубах, ушных раковинах также несут опорную (каркасную) функцию. Характерные особенности хрящевой ткани на всех уровнях структурной организации обеспечивают прочность и упруго-эластические свойства хряща (способность к обратимой деформации), что и обуславливает его уникальные биомеханические свойства: способность выдерживать большие механические нагрузки, сохраняя при этом активный метаболизм и способность к пролиферации (Muir, 1995).

Все виды хрящевой ткани (гиалиновый, волокнистый и эластичский хрящ) состоят из клеток (хондроцитов), погруженных в меж-

клеточный матрикс, который в свою очередь образован волокнами и основным веществом (комплексом протеогликанов и гликопротеинов). Виды хряща различаются особенностями хондроцитов, степенью маскировки волокон на светооптическом уровне, составом волокон (коллагеновых и эластических) и их архитектоникой. Важным атрибутом хрящей, за исключением суставных, является надхрящница (перихондрий), которая обеспечивает питание и рост хряща. Суставной хрящ, лишенный надхрящницы, непосредственно контактирует с синовиальной жидкостью полости сустава и с костной тканью, а его питание происходит за счет диффузии питательных веществ из этих источников.

В некоторых работах и руководствах хрящ характеризуется как бессосудистая, инертная, брадитрофная (с низким уровнем обмена) ткань, не способная к регенерации при повреждении. Исследования последних лет эти устоявшиеся представления подвергают пересмотру.

1.3. Морфология, биохимия, функция хряща

1.3.1. Гиалиновый хрящ

Наиболее часто в организме встречается гиалиновый хрящ (от греческого «гиалос» — стекло), который макроскопически представляет собой полупрозрачное жемчужно-белое вещество. Такой внешний вид обусловлен наличием межклеточного матрикса особой структуры, резко отличающегося от матрикса других видов соединительной ткани. Структура гиалинового хряща хорошо описана в ряде руководств, монографий и обзорных статей (Хэм, 1983; Павлова, 1988; Hunziker, 1990; Pool, 1993, 1997; Muir, 1995; Aigner, 2003; Hu, 2003). Типичными примерами гиалинового хряща являются суставной и реберный хрящи. Он представлен также хрящами носовой перегородки, трахеи и бронхов.

1.3.1.1. Развитие хряща. В эмбриогенезе гиалиновый хрящ образуется из мезенхимы в участках плотноупакованных клеток, из которых возникает зачаток хрящевой ткани (бластема), обладающий формой будущей хрящевой структуры. В центральной области таких участков плотноупакованные мезенхимные клетки постепенно дифференцируются в хрящевые клетки, которые идентифицируются гистологически по образуемому межклеточному матриксу (Павлова, 1988). Последний уже содержит специфические для хряща протеогликаны и коллаген II типа, в отличие от коллагена I типа, который обнаруживается в бластемах. Клетки, которые дифференцируются в хондробласты, отличаются от фибробластов формой и характером синтеза типов коллагена и кислых гликозаминогликанов (ГАГ). Совокупность процессов пролиферации клеток и секреции ими компонентов матрикса обеспечивает накопление массы молодого хряща. Та-

кой процесс называется интерстициальным (т.е. внутренним) ростом. В этом случае молодые клетки (хондробласты) делятся внутри межклеточного матрикса, который в молодой ткани достаточно пластичен, что позволяет ему растягиваться в процессе интерстициального роста.

Клетки мезенхимы окружают развивающийся хрящ, формируют перихондрий (надхрящницу), который состоит из двух слоев. Внешний слой образован обычной плотной соединительной тканью, а внутренний слой сохраняет хондрогенный потенциал. Из этого слоя осуществляется *оппозиционный рост хряща*, т.е. нарастание новых масс ткани на периферии хрящевого комплекса. Этот механизм обусловлен наличием недифференцированных клеток на поверхности хрящевой ткани, которые пролиферируют и дифференцируются в хондроциты.

В хрящах носовой перегородки, гортани, трахеи и бронхов внутренний хондрогенный слой с течением времени истончается и исчезает, а в зрелых хрящах надхрящница состоит только из волокнистого соединительнотканного слоя, однако клетки под надхрящницей остаются более мелкими и при определенных условиях способными к пролиферации. В зрелом суставном хряще надхрящница отсутствует, а хрящевая ткань непосредственно контактирует с синовиальной жидкостью.

Хондрогенные свойства перихондрия используются в современной хирургии в случаях необходимости заполнения дефектов хряща и его репарации. Производится трансплантация участков надхрящницы от трупов (реже гетеротрансплантация). Успешно пересаженная надхрящница, обладающая пролиферативной потенцией, образует хрящевую ткань, восстанавливая поврежденный участок (Skoog, 1976).

1.3.1.2. Хондроциты. В созревающем гиалиновом хряще хондроциты, независимо от того образовались ли они из мезенхимы, хондрогенной бластемы или при дифференцировке клеток хондрогенного слоя, секретируют вокруг себя компоненты матрикса, оказываясь в небольших полостях, называемых лакунами (рис. 1.1).

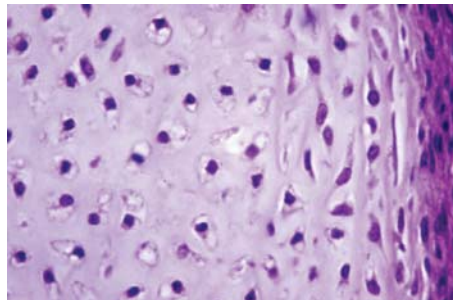


Рис. 1.1. Созревающий гиалиновый суставной хрящ. В поверхностном слое (справа) клетки веретеновидные; в глубоком слое клетки округлые и располагаются в лакунах. Окраска гематоксилином и эозином; $\times 200$

Poole (1993) считает термин «лакуна» условным, так как при современных методах морфологического исследования эта полость не обнаруживается, а при световой микроскопии является артефактом фиксации и обезвоживания. Этот автор, как и некоторые другие (Nunziker, 1990; Aigner, 2003) предпочитают называть светлую зону вокруг клетки перичеллюлярным матриксом. Однако, учитывая условность термина «лакуна», мы сохраняем его в описании, так как им пользуется большинство морфологов.

Хондроциты в процессе интерстициального роста способны еще несколько раз делиться. Однако дочерние клетки, представляющие собой клоны исходной клетки, остаются в той же первичной лакуне, отделяясь друг от друга тонкой прослойкой матрикса. Поэтому в первичной лакуне оказывается часто 2–4 клетки, которые называются изогенными группами клеток, клеточными гнездами, кластерами или клонами (рис. 1.2). При этом каждый хондроцит расположен в своей полости, называемой вторичной лакуной (т.е. вторичные лакуны одного гнезда находятся внутри первичной лакуны).

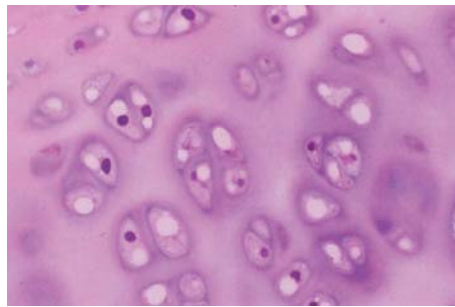


Рис. 1.2. Зрелый гиалиновый хрящ носовой перегородки. Видны изогенные группы клеток. Метакромазия (сиреневая окраска матрикса) свидетельствует о высоком содержании протеогликанов. Окраска толуидиновым синим; $\times 200$

В живой ткани цитоплазма хондроцита полностью заполняет свою лакуну (то есть полость отсутствует), но в фиксированной обезвоженной ткани на срезе цитоплазма сжимается и отстает от стенок лакуны. Молодые хондроциты, как правило, не имеют сферическую форму, они сплюснены. Зрелые клетки обычно более крупные и чаще имеют округлую форму.

Следует отметить, что традиционно в специальной литературе при характеристике клеточного элемента хряща употребляют термины «хондробласт» и «хондроцит». В части работ под *хондробластами* понимают молодые (незрелые) клетки, способные к митотическому делению, но уже продуцирующие специфические для хряща компоненты

матрикса. *Хондроцитами* называются зрелые хрящевые клетки, основной функцией которых является биосинтез и секреция этих компонентов, но способные в определенных условиях вернуться к митозу или амитозу. Однако в некоторых работах все клетки хряща по аналогии с фибробластами называют хондробластами и термины «хондробласт» и «хондроцит» становятся идентичными. Термины эти действительно условны, так как отсутствуют точные морфологические критерии их различия, как по светооптической, так и по ультраструктурной характеристикам (Kosher, 1983, Hunziker, 1990). В дальнейшем все клетки зрелого хряща мы обозначаем как «хондроциты».

Хондроциты — высокоспециализированные и метаболически активные клетки, вырабатывающие все компоненты хрящевого матрикса: коллаген II типа и минорные коллагены, протеогликаны, гликопротеины. Это документировано иммуноморфологическими исследованиями в культуре хондроцитов и в хрящевой ткани (van der Mark, 1979; Hooton, 1983; Nauman, 2002), которые обнаружили в цитоплазме клеток коллагены II, V, VI, IX типа, а также работами Hascall (1981), показавшими накопление сульфатированных гликозаминогликанов в везикулах комплекса Гольджи окраской рутениевым красным и радиоавтографическим методом. Сборка агрегатов протеогликанов происходит уже в матриксе. Показано, что синтез коллагена, ГАГ и стержневых белков происходит в хондроцитах одновременно, но в разных участках цитоплазмы.

Ультраструктура хондроцитов к настоящему времени хорошо изучена (Модяев, 1980; Хэм, 1983; Schenk, 1986; Hunziker, 1990; Polle, 1993, 1997). Цитоплазма клеток имеет короткие отростки, которые местами вклиниваются в окружающий матрикс, «заякоревая» коллагеновые фибриллы (van der Mark K, 1986). Ядра содержат ядрышки, хроматин конденсирован только вблизи ядерной мембраны, в которой различимы поры (рис. 1.3). Цитоплазма характерна для активно синтезирующих клеток: хорошо развит гранулярный эндоплазматический ретикулум (ГЭР), в цистернах которого скапливается синтезированный коллаген и стержневой белок, а также комплекс Гольджи (ГК), в котором синтезируются ГАГ. Многочисленные секреторные пузырьки свидетельствуют об активной секреции этих веществ. Число митохондрий сравнительно невелико, что свидетельствует о зависимости обмена хондроцитов от гликолиза. Клетки располагаются отдельно или изогенными группами (рис. 1.4).

Отмечена фенотипическая неоднородность (гетерогенность) хондроцитов, что связано с их топическим расположением в хряще, разными сроками дифференцировки и функциональным состоянием клеток (Aydelotte, 1993). Модяев (1980, 1983) и Павлова (1988) выделяют три типа клеток: 1) камбиальные клетки со слабовыраженными ГЭР и ГК и отсутствующим гликогеном, способные к делению; 2) дифференцированные с сильно развитым комплексом Гольджи, активные в отноше-

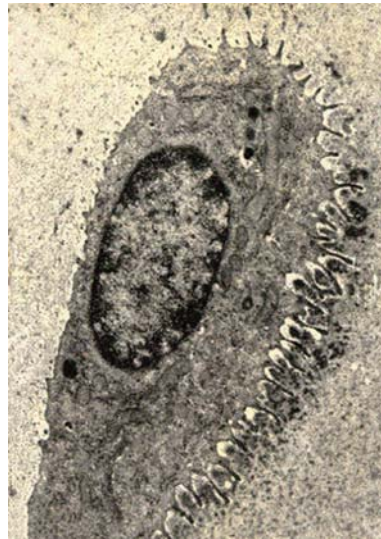


Рис. 1.3. Хондроцит в рыхлом микроокружении. Видны многочисленные короткие отростки цитоплазмы. Электронограмма; $\times 10000$

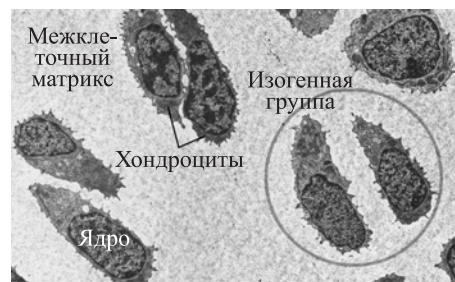


Рис. 1.4. Изогенные группы хондроцитов гиалинового хряща. Электронограмма; $\times 3500$

нии синтеза и секреции и 3) высокодифференцированные, содержащие гранулярно-волоконистый материал в цистернах ГЭР с преимущественно секреторной деятельностью. Клетки II и III типа, по-видимому, утрачивают способность к митозу, но могут репродуцироваться амитотически, образуя изогенные группы. Встречаются крупные гипертрофированные клетки, но по ультраструктурной характеристике они относятся к клеткам II и III типа.

1.3.1.3. Межклеточный матрикс (молекулярная структура, архитектура). Молекулярной структуре и биохимическим особенностям матрикса гиалинового хряща посвящено особенно боль-

шое количество литературы, обобщенной в монографиях и обзорах (Слуцкий 1969, 1985; Павлова, 1988; Muir, 1983, 1995; Mayne, 1993; Neame, 1993; Hu, 2003).

Химический состав матрикса. Установлено, что матрикс хряща высокогидратирован — около 75% сырого веса всех тканей приходится на тканевую жидкость, содержащуюся в гелеобразной структуре матрикса. Тканевая жидкость является важным компонентом в поддержании жизнедеятельности хондроцитов, а ее взаимодействие с протеогликанами и коллагеном является решающим фактором в формировании физико-химических свойств хряща.

Из органических веществ матрикс гиалинового хряща наиболее богат коллагеном (от 50 до 70% сухого веса в зависимости от источника ткани). О количестве коллагеновых белков судят по содержанию гидроксипролина — аминокислоты, специфичной только для коллагена.

Остальная часть матрикса состоит в основном из гликозаминогликанов, маркерами которых при химическом анализе служат гексуроновые кислоты (в хряще это в основном глюконовая кислота) и гексозамины (галактозамин и глюкозамин). ГАГ является вторым после коллагена преобладающим компонентом матрикса хряща, из всех видов соединительной ткани хрящ богат ими в наибольшей степени.

Еще одним важным компонентом матрикса являются неколлагеновые белки, состоящие в основном из гликопротеинов, к полипептидным цепям которых присоединены небольшие углеводные группы (олигосахариды), состоящие из гексозаминов, гексоз, фукозы и сиаловых кислот (Anderson, 1976; Neame, 1993). Гликопротеины и ГАГ образуют более крупные макромолекулы — протеогликаны (агреканы).

Количественное соотношение основных компонентов матрикса варьируется в зависимости от биологического вида, типа и локализации хряща, возраста и даже зоны одного и того же хряща (Слуцкий В. Н., 1985). В среднем в суставном хряще взрослого человека содержится 75% воды, 10% хондроцитов, 8% коллагена, 7% протеогликанов (Hilldebran, 2003).

Коллаген. Коллаген — основной белок (точнее семейство белков) соединительной ткани, составляющий около 30% сухого веса тела млекопитающих. Он широко представлен во всех видах соединительной ткани, в том числе в хрящевой, где его концентрация уступает только сухожилиям и коже. Литература, посвященная молекулярной, надмолекулярной и фибриллярной структуре коллагеновых белков, их биосинтезу, фибрилlogenезу и катаболизму, физиологическим функциям и роли в патологии, неисчислима. Укажем только некоторые монографии и обзоры — Серов (1981), Слуцкий (1985), Mayne (1993), Bruckner (1994), Шехтер (1995), Ottani (2001), Eyre (2002), Aigner (2003).

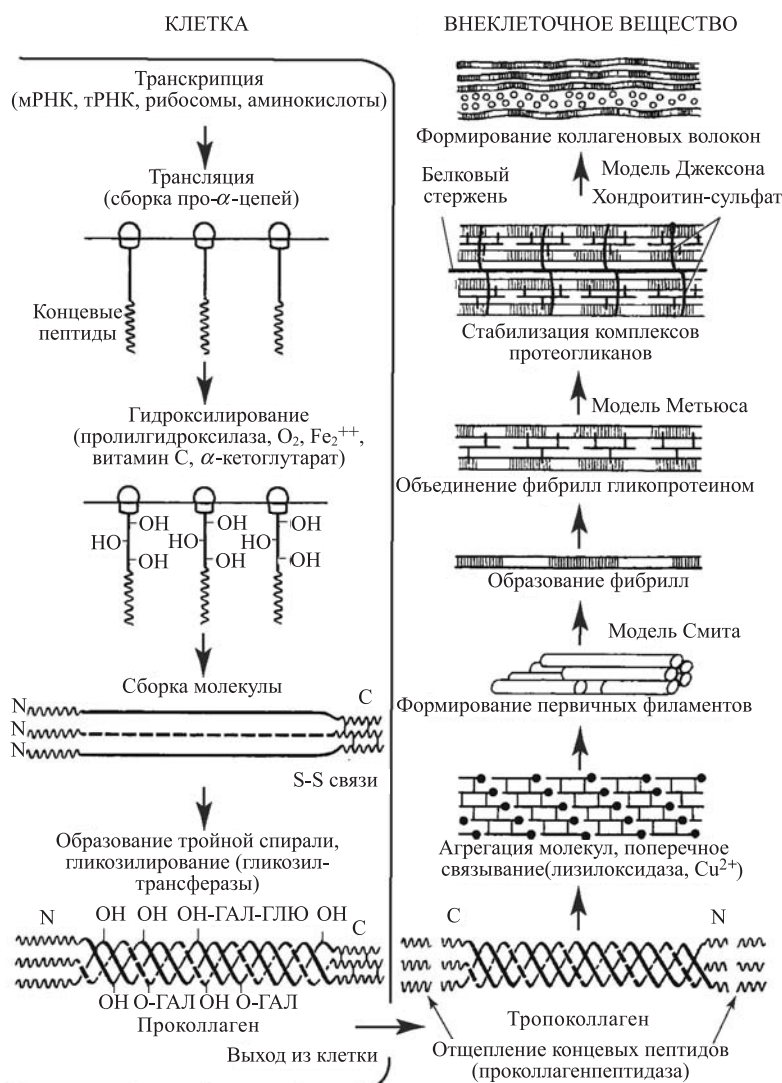


Рис. 1.5. Схема внутриклеточного биосинтеза и внеклеточной последовательной молекулярной самосборки коллагеновых структур

В схеме на рис. 1.5 суммированы основные этапы внутриклеточного синтеза и внеклеточной самосборки молекул коллагена, последовательной организации надмолекулярных структур.

Макромолекула коллагена состоит из трех полипептидных α -цепей, сплетенных в трехспиральную структуру. В коллаген-продуцирующих клетках (фибробластах, хондроцитах и т.д.) α -цепи собираются на рибосомах, фиксированных к мембранам ГЭР и там же с помощью пролил- и лизилгидролаз происходит образование гидроксипролина и гидроксизина (химических маркеров коллагена, специфичных только для этого белка).

Три α -цепи скручиваются в трехспиральную молекулу проколлагена (транспортная внутриклеточная форма коллагена), которая отличается от конечной формы наличием на обоих концах α -цепей неспиральных пептидов, предотвращающих внутриклеточную агрегацию молекул. После выхода из клеток молекулу иногда называют тропоколлагеном. В ней происходит отщепление концевых пептидов с помощью проколлаген-пептидазы. Таким образом, образуется зрелая молекула коллагена с молекулярной массой 300000 Да, длиной 280 нм и толщиной 1,4 нм. Молекулы коллагена агрегируют в протофибриллы, причем в присутствии медьсодержащих субстанций и лизилоксидазы происходит образование поперечных ковалентных связей как внутри-, так и межмолекулярных.

По наиболее широко принятой модели Smith (1968) пять молекул коллагена, сдвинутых между собой на четверть длины молекулы, соприкасаясь боковыми поверхностями, уложены в цилиндрический филамент. Такой филамент в длину растет за счет присоединения новых молекул, а в ширину — только путем соединения филаментов между собой. Теоретически вычисленный диаметр филаментов совпадает с размерами минимальных протофибрилл (3–5 нм) внутри фибрилл коллагена, обнаруженных при электронной микроскопии (Vignos, 1976; Шехтер, 1980). Агрегация филаментов формирует типичную фибриллу коллагена с периодичностью 64 нм (темный и светлый период). Фибриллы диаметром от 40 до 200 нм с помощью гликопротеинов и протеогликанов объединяются в более крупные образования — коллагеновые волокна (которые уже видны на светооптическом уровне), а те — в пучки волокон. При этом на всех уровнях сохраняется спиральное скручивание элементов в структуре следующего порядка (наподобие жил в канате), что придает коллагеновым образованиям особую прочность (Шехтер, 1985). При патологических процессах и физических воздействиях происходит раскручивание и диссоциация структурных элементов на всех уровнях (от пучка до молекул).

Следует отметить, что архитектоника коллагеновых структур строго тканево специфична. Так в коже, стенках сосудов преобладают спирально скрученные небольшие близкие по диаметру разнонаправленные фибриллы и волокна, что соответствует биомеханическим свойствам этих реагирующих на разнонаправленное напряжение тканей. В сухожилиях, связках, костной ткани преобладают более крупные

и гетероморфные фибриллы с параллельной упаковкой и прямой ориентацией, что соответствует напряжению вдоль оси.

Коллагеновые структуры хряща имеют уникальную организацию, соответствующую биомеханической функции хрящевой ткани. В гиалиновом хряще коллагеновые волокна не формируют пучки (в отличие от волокнистого хряща). Они образуют сложную сеть, которая видна только при электронной микроскопии, так как на светооптическом уровне волокна маскируются протеогликанами. При частичном протеолизе протеогликанов коллагеновые волокна визуализируются. Прежние представления о беспорядочном (неориентированном) расположении коллагеновых волокон в гиалиновом хряще являются, таким образом, необоснованными. Более подробно об архитектонике коллагеновых волокон в различных хрящах см. в разд. 1.4.

Важнейшим достижением последних десятилетий является открытие *гетерогенности* коллагена. Первоначально из разных тканей были выделены четыре разных типа коллагена (Epstein, 1975; Trelstad, 1974). В настоящее время известно уже 19 типов коллагена, которые отличаются комбинацией разных по структуре α -цепей, отличающихся аминокислотной последовательностью, длиной цепи и числом неспиральных доменов в молекуле (Mauné, 1993; Euge, 2002).

Исходя из супрамолекулярной организации и размеров молекул, коллагены делят на следующие группы:

1) фибриллярные коллагены (типы I, II, III, V и XI), формирующие фибриллы разных форм и диаметров и обеспечивающие прочность соединительно-тканым образованиям, в том числе хрящам;

2) сетевидный коллаген (IV типа), образующий опорную сеть базальных мембран;

3) нитевидный коллаген (VI типа), образующий ассоциации с другими типами коллагена при формировании волокнистых структур в разных тканях, в том числе в хряще, или образующий так называемое «зевровидные» тельца (поперечно исчерченные нитевидные агрегаты);

4) коллаген с короткими цепями (VIII типа), обнаруженный в роговице и некоторых других тканях;

5) коллаген с длинными цепями (VII типа), образующий якорные (anchoring) фибриллы, прикрепляющие базальную мембрану к строме;

6) связанные с фибриллами коллагены с прерывающейся тройной спиралью (типа IX, X, XII, XIV), находящиеся на поверхности других фибрилл и обеспечивающие связь с другими компонентами межклеточного матрикса, в том числе в хрящах.

Результаты иммунохимического ультраструктурного анализа (Wick, 1983) показывают, что в соединительной ткани коллагены I и II типа обычно образуют периодичные фибриллы, а коллаген III типа представлен тонкими бусиновидными фибриллами (диаметром 10–15 нм), оплетающими фибриллы коллагена I типа. Очень тонкие

филаменты (диаметром 6–10 нм), тесно связанные с фибриллами коллагенов I, II и III типа, состоят из коллагена V и VI типов. Последний, кроме того, покрывает поверхность фибрилл, усиливая рисунок периодичности.

В гиалиновом хряще подавляющее число коллагена принадлежит ко II типу, который является маркером для хрящевой ткани. Он формирует фибриллы с четкой периодичностью 64 нм, но более тонкие, чем фибриллы из коллагена I типа (в среднем вдвое тоньше) и не образует плотных пучков. Такая супрамолекулярная организация способствует связыванию воды и поддержанию гипергидратации ткани. Этим обусловлена специфика взаимодействия коллагена и протеогликанов в хряще, соответствующая его биомеханической функции (см. разд. 1.2.4.). Достаточная же прочность на разрыв при небольшой толщине волокон создается за счет более развитых, чем в коллагене I типа, поперечных связей (Maune, 1993).

Кроме коллагена II типа при гистоиммунохимическом исследовании в гиалиновых хрящах обнаружены и другие коллагены, причем их содержание и расположение в суставном и носовом хрящах различается (Naumann, 2002). В суставном хряще в очень небольшом количестве обнаружен коллаген I типа (только в интертерриториальном матриксе), в носовом его несколько больше, но только в перичеллюлярной зоне. Коллаген V типа обнаружен в матриксе и в перичеллюлярной зоне, причем в носовом хряще в перичеллюлярной зоне его больше, чем в суставном. Коллаген VI типа в суставном хряще имеется в матриксе и перичеллюлярной зоне, а в матриксе носового хряща он не обнаружен. В суставном хряще коллаген X типа имеется только в матриксе, а в носовом хряще — везде.

В более ранних работах (Gibson, 1982; Iyama, 1991) считалось, что коллаген X типа связан с зоной минерализации суставного хряща, но Naumann (2002) такой связи не обнаружил. Еще один тип коллагена (IX) играет значительную роль в формировании поперечных связей в фибриллах коллагена II типа, его молекулы имеют антипараллельную ориентацию к молекулам II типа (Wu, 1992; Muir, 1995; Euge, 2002). Этот тип коллагена в наибольшем количестве обнаружен в капсуле вокруг хондроцитов (Wotton, 1991; Poole, 1997).

Изучение хряща при мутациях генов, отвечающих за транскрипцию минорных коллагенов (Muir, 1995), показало, что функция коллагена IX типа, ковалентно прикрепленного к фибриллам коллагена II типа, состоит в усилении прочности при одновременной гибкости фибриллярной сети; он регулирует диаметр фибрилл II типа. Количество коллагена X типа увеличивается при усиленной минерализации, однако его функции не вполне изучены. Не ясна окончательно также функция коллагена XI типа, обнаруженного в виде примесей к коллагенам II и IX типа (Mendler, 1989), также в небольшом количестве

в перицеллюлярной зоне (Vaughan-Thomas, 2001). У мышей с дефектом соответствующего гена хрящи имеют повышенную хрупкость и ненормально тонкие фибриллы со сниженной силой сцепления, что свидетельствует о роли коллагена XI типа в фибрилlogenезе и биомеханике хряща (Li, 1994; Olsen, 1996).

С возрастом соотношение коллагенов меняется (Eyre, 2002); в растущем хряще обнаруживается около 10% коллагена IX типа и 10% коллагена XI типа, а в зрелом хряще — 1% коллагена IX типа и менее 3% коллагена XI типа, причем диаметр фибрилл увеличивается.

Согласно господствующим в настоящее время представлениям (Eyre, 2002) коллагены II, IX и XI типов при фибрилlogenезе образуют своеобразный гетерополимер, где они связаны между собой поперечными связями, формируя гетерофибриллы (рис. 1.6).

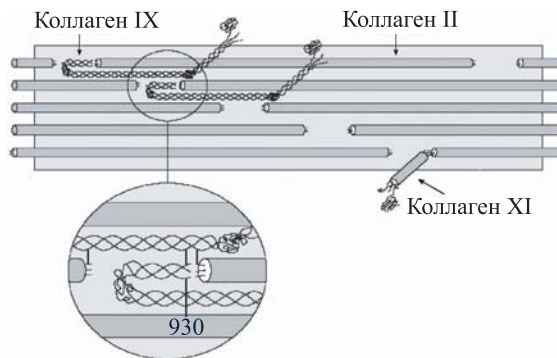


Рис. 1.6. Схема коллагеновой протофибриллы, состоящей из молекул коллагенов II, IX и XI типов (по Eyre, 2002)

Идентифицировано шесть участков, где молекулы коллагена IX типа ковалентно связаны с молекулами коллагена II типа или с другими молекулами IX типа (Dab, 1996), причем каждая из трех цепей коллагена IX типа ($\alpha 1(\text{IX})$, $\alpha 2(\text{IX})$ и $\alpha 3(\text{IX})$) имеет от одного до трех участков поперечных связей. Таким образом, коллаген IX типа, располагаясь на фибриллах коллагена II типа, образует ковалентные мостики между ними, увеличивая биомеханическую интеграцию и прочность коллагеновой сети, а также сдерживая давление осмотического набухания протеогликанов.

Коллаген XI типа также является сополимером коллагена II типа, образуя поперечные связи через N-телопептидный конец молекулы (Wu, 1995). Так как N-терминалы молекул XI типа способны соединяться с C-терминалами, то образуются связанные «голова к хвосту» филаменты, латерально интегрированные с фибриллами коллагена II

типа. Считается, что таким образом коллаген XI типа ограничивает латеральный рост фибрилл (Blaschke, 2000).

Из хрящевой ткани выделены также коллагены XII и XIV типов, которые принадлежат к тому же семейству, что и коллаген IX типа (прерывающаяся тройная спираль). Эти молекулы также расположены на поверхности фибрилл, но не образуют ковалентных связей с коллагеном II типа (Watt, 1992). Роль их неизвестна, но предполагают, что они имеют значение в связях с минорными протеогликанами — декорином, бигликаном и фибромодулином (Eyre, 2002).

Большое значение во взаимодействиях молекул непосредственно вокруг клеток придается коллагену VI типа; он концентрируется в перичеллюлярном пространстве и, по-видимому, организует взаимодействие клеток с их микроокружением (Poole, 1997).

Биосинтез коллагена, как мы уже отмечали, происходит на рибосомах гранулярного эндоплазматического ретикулума (ГЭР). Проколлаген скапливается в цистернах ГЭР, оттуда он поступает в вакуоли комплекса Гольджи, а затем в секреторные вакуоли, выходящие из клетки. В клетках с активным синтезом коллагена он, минуя комплекс Гольджи, может выходить непосредственно из цистерн ГЭР в местах слияния их мембран с цитолеммой с образованием отшнуровавшихся везикул (Шехтер, 1995).

Катаболизм коллагена II типа в хрящах (Bellinghurst, 1997; Eyre, 2002) осуществляется с помощью специфических коллагенолитических ферментов (коллагеназ), относящихся к металлопротеиназам (ММР-1, ММР-8 и, особенно, ММР-13). Они расщепляют молекулу коллагена на два термолабильных фрагмента, теряющих спиральную структуру и затем полностью разрушающихся специфическим ферментом желатиназой (ММР-11) и рядом неспецифических протеаз. Особое значение среди них в хряще имеет стромелизин-1 (ММР-3). Он способен расщеплять концевые телопептиды коллагеновых молекул II, IX и XI типов, осуществляя таким путем начальную деполимеризацию фибрилл, и делая доступным коллаген для воздействия коллагеназ. Этот же фермент, расщепляя белковую часть протеогликановых комплексов, играет важнейшую роль в катаболизме всего матрикса хряща.

Основными прекурсорами коллагеназ в обычной соединительной ткани являются макрофаги. Однако фибробласты также способны секретировать коллагеназу и даже фагоцитировать коллагеновые фибриллы, становясь фиброкластами (Шехтер, 1975; 1978). В хряще, где макрофаги отсутствуют, единственным источником коллагеназ являются хондроциты. Действительно, иммуногистохимически была показана деградация коллагена II типа вокруг хондроцитов в норме и усиление этого процесса при остеоартрозе и ревматоидном артрите (Dodge, 1989; Hollander, 1994). Таким образом, хондроциты, синтезируя и катаболизируя все элементы матрикса хряща, регулируя его метаболизм и выстраивая свое микроокружение, являются архитектором

хряща, осуществляя ту же функцию, что и фибробласты всех видов соединительной ткани (Шехтер, 1978).

Протеогликаны и гликопротеины. В хрящевой ткани ГАГ представлены в основном сульфатированными формами — хондроитин-4-сульфатом, хондроитин-6-сульфатом и кератансульфатом. Эти ГАГ являются линейными полимерами, построенными из повторяющихся дисахаридных единиц (гексозамина и гексуроново́й кислоты или галактозы). Друг от друга ГАГ отличаются химической структурой компонентов (у кератансульфата это — галактоза вместо Д-глюконовой кислоты), степенью сульфатированности и молекулярной массой (рис. 1.7).

Сульфатированные ГАГ содержат от 20 до 10 дисахаридов и от 0,1 до 1,8 сульфатных остатков на единицу. Кроме того, в матриксе содержится несulfатированный ГАГ — гиалуроновая кислота. На ее долю приходится лишь около 1% гексуроново́й кислот, но она играет весьма важную роль в формировании надмолекулярной структуры матрикса. Гиалуроновая кислота содержит до 20000 дисахаридов, они имеют молекулярную массу до 1,6 МДа.

ГАГ не существуют в свободном состоянии в хряще, как и в других видах соединительной ткани. По современным представлениям они входят в состав протеогликанов (агреканов) — сложных комплексных макромолекул, построенных из стержневого белка, к которому по бокам прикреплено большое число цепочек ГАГ. Агреканы, в свою очередь, с помощью связующего белка прикреплены к длинной молекуле гиалуроновой кислоты (Muir, 1983, 1995; Hascall, 1983; Neame, 1993; Hardingham, 1995; Couchman, 2001; Kiani, 2002).

На рис. 1.8 представлено схематическое изображение этих гигантских макромолекул, имеющих массу порядка 50–100 МДа, в их соотношении с коллагеном (Kiani, 2002).

Изложенные представления о строении макромолекулярных протеогликановых комплексов в настоящее время считаются общепринятыми и подтвержденными прямыми электронно-микроскопическими наблюдениями (Rosenberg, 1975; Thuberg, 1977; Ng, 2004) (рис. 1.9). Показано, что длина молекул гиалуроновой кислоты составляет около 1700 нм, белкового стержня — 300 нм, хондроитинсульфатных цепей — 45–50 нм, расстояние между точками прикрепления — 10–11 нм. Цепочки хондроитинсульфатов прикреплены к стержневому белку группами по 10 цепочек в каждой по типу «щетки-ершика». Часть протеогликанов с гиалуроновой кислотой не связана.

По расчетам Hardingham (1981) одна молекула гиалуроновой кислоты может присоединить 200 протеогликановых субъединиц. Только в хряще эти агрегаты достигают таких больших размеров, что свидетельствует о важности феномена агрегации для структуры и биомеханических свойств хряща. Показано, что агрегаты протеогликанов в матриксе хряща объединены с помощью особых гликопротеинов

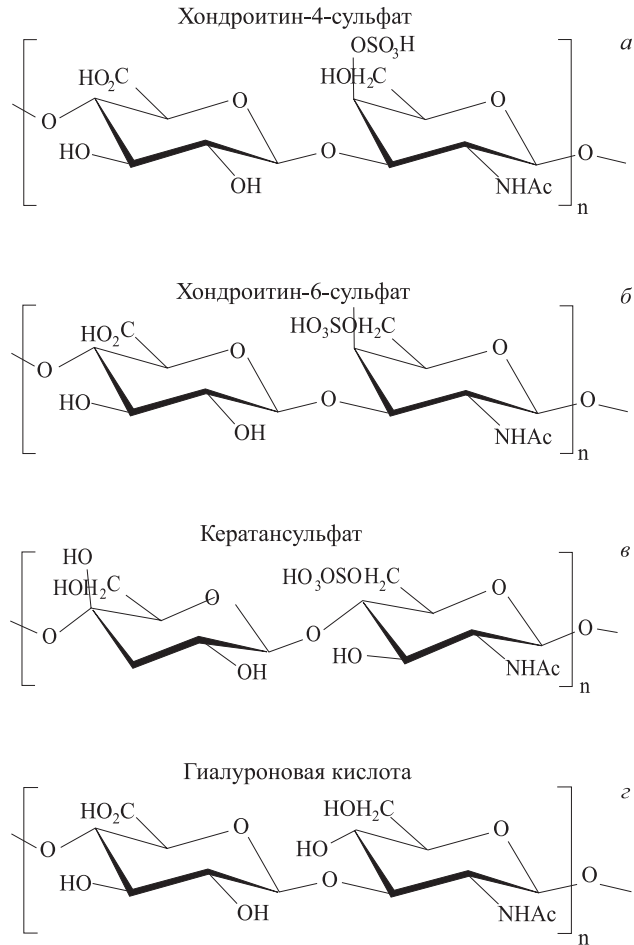


Рис. 1.7. Химическая структура гликозаминогликанов (ГАГ)

в еще более крупные структуры — суперагрегаты (Manicourt, 1983). И, наконец, протеогликановые агрегаты соединяются с коллагеновыми фибриллами в более сложные агрегаты, что превращает матрикс хряща в единую согласованно действующую систему.

В последние годы методами молекулярной биологии установлены особенности тонкой структуры агреганов (Hardingham, 1995; Watanabe, 1998; Kiani, 2002). На рис. 1.10 схематически изображено строение агрегана. Каждый агреган содержит около 100 хондротинсульфатных цепей, прикрепленных к стержневому белку ближе к свободно-

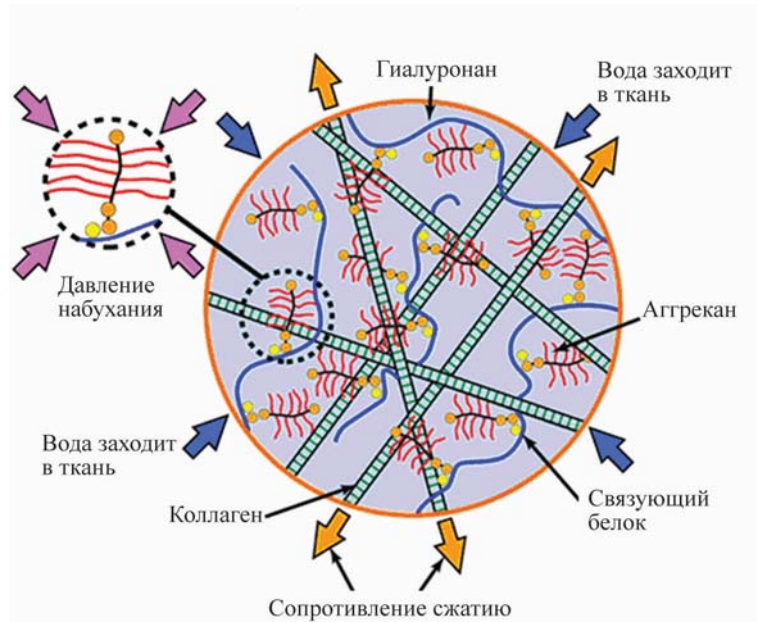


Рис. 1.8. Структура, свойства и взаимоотношения коллагена и агреганов в суставном хряще

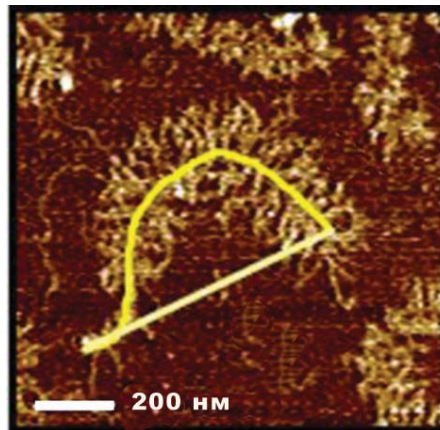


Рис. 1.9. Электронограмма агрегана, выделенного из хряща (по Ng, 2004)

му С-терминалу последнего; молекулярная масса каждой цепи около 20 кДа. Кератансульфатные цепи (около 60 цепей) прикреплены ближе к N-терминалу, они более короткие и имеют молекулярную массу 5–15 кДа. Стержневой белок агрегана, как показано на рис. 1.10,

имеет три глобулярных домена (G1, G2 и G3) и три вытянутых домена: интерглобулярный домен (IGD), кератансульфатный домен (KS) и хондротинсульфатный домен (CS-1 и CS-2). Кроме того, агрекан содержит O- и N-связанные олигосахариды. O-олигосахарид прикрепляется к стержневому белку подобно цепям кератансульфата.

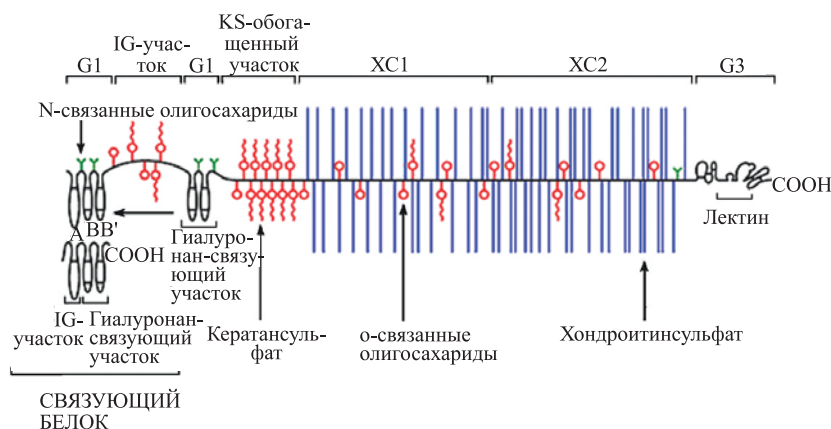


Рис. 1.10. Молекулярная структура агрекана

Кератансульфатные цепи прикрепляются к белку в KS-домене и в меньшем количестве в IGD-домене, хондротинсульфатные — в CS-1 и CS-2 доменах. Глобулярный домен находится на N-терминале стержневого белка, он содержит участок близкий по структуре к иммуноглобулину. Такая же структура имеется и на линк-протеине, в этой области и происходит присоединение агрекана к гиалуроновой кислоте. Кроме того, в G1-домене имеются две протеогликановые тандемные повторяющиеся области (PTR), также, по-видимому, участвующие в связывании с гиалуроновой кислотой.

G2-домен состоит из двух PTR. Функция этого домена не вполне ясна, полагают, что он играет роль в прикреплении кератансульфатных цепей, в регуляции секреции и тканевом распределении протеогликанов (Kiani, 2002). G3-домен, который находится на C-терминале стержневого белка, состоит из трех участков: подобных эпидермальному фактору роста (EGF), углевод-распознаваемому домену (CRD) и комплемент-связанному протеину (CBR). Функции этого домена также не совсем ясны, но считается, что он имеет отношение к прикреплению протеогликанов к клеточной поверхности и, возможно, к другим белкам.

Кроме больших протеогликановых комплексов (агреканов) в хряще, особенно в перичеллюлярном пространстве, обнаружены неболь-

шие содержащие дерматансульфат протеогликаны — декорин, бигликан и фибромодулин (Rosenberg, 1992; Miosge, 1994; Aigner, 2003). Функции их еще окончательно не установлены, но считается, что малые протеогликаны ингибируют фибрилlogenез, лимитируют фибронектиновую адгезию и связывают TGF- β , модулируя митогенную или биосинтетическую активность клеток. Декорин и фибромодулин также опосредует коллаген-протеогликановое взаимодействие (Scott, 1993).

Другим важным компонентом матрикса являются *гликопротеины*. Наряду с гликопротеинами, входящими в макромолекулу протеогликанов и их агрегатов (стержневой и связующий белки), матрикс содержит еще ряд гликопротеинов, несущих важную функцию, главным образом, во взаимодействии клеток и матрикса (Fife, 1993; Aigner, 2003).

Фибронектин — высокомолекулярный «адгезивный» белок, играющий роль молекулярного и клеточного «клея». Этот белок участвует в адгезии клеток, связывая их между собой, с коллагенами разных типов и протеогликанами, играя важную роль в клеточном дифференцировании и морфогенезе. В хряще он появляется вместе с коллагеном II типа в эмбриогенезе на стадии хрящевой бластомы и увеличивается в количестве во время дифференцировки хряща. Представления о том, что в зрелом хряще он отсутствует (Kleinman, 1981), позже были опровергнуты (Clemmensen, 1982), причем наибольшая его концентрация была вокруг хондроцитов, где он взаимодействует с коллагеном VI типа (Poole, 1997).

Хондронектин — белок с молекулярной массой 180000 Да, который продуцируется хондроцитами и способствует их прикреплению к коллагену подложки *in vitro*. Обладает выраженным сродством к коллагену II типа и агрегатам протеогликанов (Lash, 1983).

Анхорин — низкомолекулярный белок (молекулярная масса 31000 Да), прочно и избирательно соединяющий хондроциты с коллагеном II типа (Mollenhauer, 1984; van der Mark, 1986).

Фибриллин — гликопротеин молекулярной массы 350000 Да, являющийся компонентом неколлагенных микрофибриллярных структур матрикса (Sakai, 1986).

Ламинин — гликопротеин, который преимущественно находится в базальных мембранах, обнаружен также в гиалиновом хряще (Durr, 1996), преимущественно в перичеллюлярном пространстве.

Интегрин — существует в хряще в двух формах ($\alpha 1\beta 1$ и $\alpha 2\beta 1$) и взаимодействует в перичеллюлярном пространстве с фибронектином и коллагеном VI типа, характеризует де-дифференциацию хондроцитов (Saltar, 1992). В последние годы обнаружены еще хрящевой матриксный протеин (СМР) и хрящевой олигомерный матриксный протеин (СОМР), которые регулируют экспрессию генов и хондрогенный фенотип (Aigner, 2003).

Выделен и еще целый ряд гликопротеинов хрящевого матрикса, играющих роль (еще не до конца выясненную) в связи клеток с матриксом, протеогликанов с коллагеном, в образовании суперагрегатов протеогликанов и в других аспектах организации матрикса (Chandrasekhar, 1986).

Биосинтез всех этих веществ происходит в хондроцитах. Гликопротеины образуются на рибосомах ГЭР. Цепи ГАГ начинают формироваться в цистернах ГЭР, дальнейшие этапы синтеза и сульфатирование происходит в комплексе Гольджи, откуда они выводятся из клетки, как показывают рентгенографические и гистохимические исследования (Thuberg, 1977).

Катаболизм протеогликанов (агреканов) происходит очень медленно (Maroudas, 1998) и протекает с помощью ряда лизосомных ферментов, которые осуществляют деградацию полисахаридных цепей в разных точках: β -глюкоронидазы, гиалуронидазы, β -N-ацетилгексоаминидазы, сульфоэстеразы, сульфоамидазы, α -индуридазы, β -галактозидазы (Orkin, 1976; Poole, 1994). В катаболизме белковой части протеогликанов и других гликопротеинов принимают участие лизосомные кислые протеазы (катепсины D, V₁, F), а также металлопротеиназа MMP-3. В последнее время обнаружены специфические ферменты — агреканазы (Arner, 1999), относящиеся к группе металлопротеиназ (MMP-13, MMP-14) и осуществляющие протеолиз агреканов в межглобулярных доменах (IGD).

1.3.1.4. Надмолекулярная организация и микроархитектоника хряща, хондроны. В настоящее время прежние представления о «бесструктурном» гомогенном матриксе гиалинового хряща сменилось представлением о высокоупорядоченной надмолекулярной организации, объединяющей волокна и межфибриллярные компоненты в целостную структуру — функциональную систему.

Изучить микроархитектонику коллагеновых волокон на гистологических препаратах трудно из-за маскировки их протеогликанами. Только при демаскировке ферментами, растворяющими протеогликаны, коллагеновая строма выявляется более отчетливо. По совокупности данных световой (после демаскировки), поляризационной, трансмиссионной и сканирующей электронной микроскопии определяется архитектура коллагеновых волокон, которая отнюдь не является беспорядочной, а определяется векторами действия сил натяжения, сжатия и смещения (Павлова, 1988; Muir, 1995).

В гиалиновом хряще любой локализации различают территориальные (окружающие хондроциты или их группы) и межтерриториальные зоны матрикса. В территориальном матриксе коллагеновые волокна переплетаются вокруг клеток, образуя стенки лакун, что служит защитой клеток от сжатия (Urban, 1994). Волокна расположены, в основном, циркулярно. Ориентация пучков коллагеновых волокон

в межтерриториальном матриксе соответствует вектору действия сил распределения нагрузки на тот участок органа, который построен из хряща или им защищается.

Густая сеть таких коллагеновых волокон располагается в плотном геле протеогликановых агрегатов и прочно соединена с ними; экстрагировать компоненты отдельно практически невозможно (Quintarelli, 1975). Протеогликаны и их агрегаты, описываемые понятием «диффузные молекулы», свободно пропускают воду и мелкие молекулы, но не крупные молекулы белков («эффект исключенного объема»).

Агрегаты протеогликанов сжаты и переплетены между собой, образуя сложную и прочную трехмерную сеть. В свою очередь, эта сеть переплетена с трехмерной сетью коллагеновых волокон, как было схематически показано на рис. 1.8 (Kiani, 2002).

Эта связь во многом имеет механический характер, говорят даже о «захвате» агрегатов протеогликанов коллагеновой сетью, хотя не исключены и электростатические связи между отрицательно заряженными карбоксильными и сульфатными группами ГАГ и положительно заряженными группами на поверхности коллагеновых фибрилл (Слуцкий, 1985).

В связи агреганов и коллагенов участвуют также гликопротеины типа фибронектина, хондронектина, анкорина и другие выделенные из хряща гликопротеины, а также малые протеогликаны (фибромодулин, декорин), особенно в перичеллюлярной зоне матрикса, где, в основном, сосредоточены адгезивные белки. Взаимодействие между разными компонентами матрикса схематически отображено на рис. 1.11.

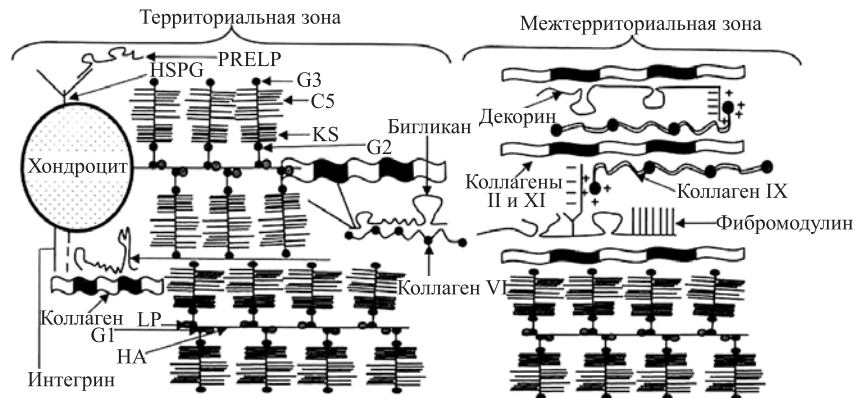


Рис. 1.11. Схема взаимодействия агреганов, малых протеогликанов, коллагенов и гликопротеинов в межклеточном матриксе хряща (по Kiani, 2002)

Морфологическая картина, особенно на ультразвуковом уровне, также указывает на высокую упорядоченность структуры матрикса и его взаимоотношений с клетками хряща.

Еще в 1925 г. А. Venninghoff впервые ввел представление о *хондроне*, как структурно-функциональной единице хрящевой ткани, однако Poole (1984, 1993, 1997) много позже развил это представление. Единичный хондрон представляет собой систему «хондроцит-перичеселлюлярное пространство–перичеселлюлярная капсула–околокапсульный территориальный матрикс» (рис. 1.12).

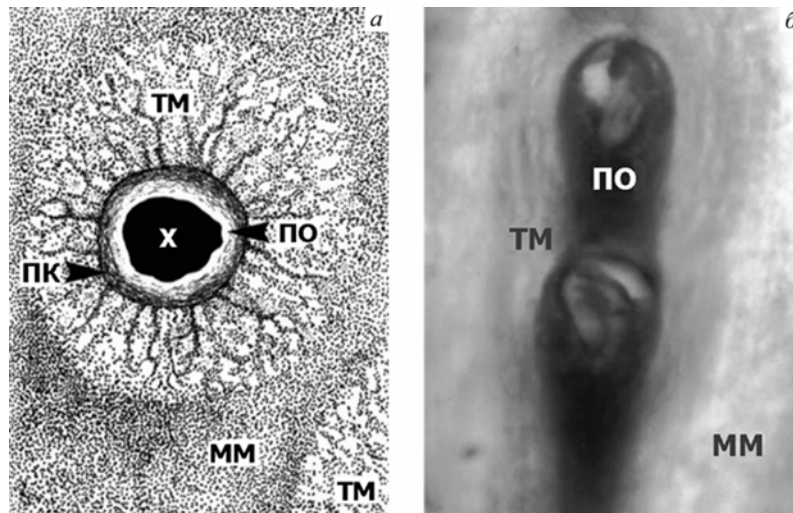


Рис. 1.12. Структура хондрона по Poole (1997): а — схема хондрона; б — единичный хондрон. Окраска гематоксилином и эозином, шкала 10 мкм. Х — хондроцит; ПО — перичеселлюлярное окружение; ПК — перичеселлюлярная капсула; ТМ — территориальный матрикс; ММ — межтерриториальный матрикс

Перичеселлюлярное пространство содержит сравнительно рыхлый матрикс, контактирующий с клеточной мембраной, и богатый гиалуроновой кислотой, для которой на клеточной поверхности есть специальные рецепторы (Kludson, 1993). Перичеселлюлярная капсула построена из минорных коллагенов типа IX и VI (Poole, 1992; Wotton, 1991). Перикапсулярная корзина территориального матрикса содержит коллагеновые фибриллы преимущественно II типа. Хондроны похожи на устойчивые к давлению, наполненные водой пузыри, которые демпфируют механические, осмотические и физико-химические изменения, включая динамическую нагрузку. Их длинная ось ориентирована по линиям сил напряжения (Poole, 1997; Hing, 2002).

В зонах пролиферации в суставном и метафизарном хряще хондроны объединяются в цепочки по две клетки и больше, имея общую перичеселлюлярную капсулу. Единичные хондроны и их цепочки можно экстрагировать из хрящевой ткани с помощью механической или ферментной обработки. Возможность такой экстракции подтверждает хондронную структуру хряща.

Авторы считают, что подобная клеточно-матриксная архитектура хряща наилучшим образом приспособлена к компрессии и смещению компонентов при биомеханическом функционировании. Она обеспечивает гидродинамическую защиту клеток, транспорт жидкости из клетки и обратно, микроциркуляцию питательных веществ по матриксу, и выделение отростками хондроцитов матриксных везикул в зоне кальцификации. Таким образом, хондронные структуры наряду с волокнами матрикса являются основой архитектуры хряща.

1.3.1.5. Питание и метаболизм хрящевой ткани. Гиалиновый хрящ относится к аваскулярным тканям, при этом суставной хрящ полностью лишен сосудов. Надхрящница в хряще ребер, гортани, трахеи, бронхов, ушной раковины, носовой перегородки взрослых организмов хорошо васкуляризирована, однако эта капиллярная сеть не проходит в хрящевую ткань, а внутренний слой надхрящницы представляет резервуар тканевой жидкости, омывающей хрящевую ткань (Stockwell, 1983).

Метафизарная пластинка роста и базальная зона суставного хряща также имеют сосуды, но это связано с процессом кальцификации. В основном же суставной хрящ сосудов не имеет, питание его осуществляется из синовиальной жидкости и метафизарной пластинки.

Особенности матрикса препятствуют проникновению в хрящ сосудов. Имеется в виду плотность его микромолекулярной организации, а также способность хондроцитов продуцировать вещества, обладающие антиинвазионными свойствами и препятствующие проникновению в ткань эндотелия, например, антиинвазивного фактора (AIF), выделенного из хряща и культуры хондроцитов (Kuettner, 1983).

Питание гиалинового хряща, по данным электронной микроскопии, происходит за счет своеобразной интерстициальной сети в матриксе, состоящей из щелей и каналов, не выстланных эндотелием (Омельяненко, 1987; Павлова, 1988; Meachim, 1975; Peyron, 1994). Диаметр этих интерстициальных пространств колеблется от 10 до 50 нм, а объем их составляет до $0,96 \text{ см}^3$ на грамм вещества матрикса.

Учитывая, что хондроциты, объемная доля которых в аваскулярном гиалиновом хряще крайне мала (от 1 до 5%), полностью осуществляют биосинтез и катаболизм всех компонентов матрикса, встает вопрос о способах проникновения питательных веществ через толщу матрикса. Считается, что основную роль в этом играет диффузия, т.е. перемещение находящихся в растворе молекул из области более высо-

кой концентрации в область более низкой (Maroudas, 1975; Ratcliffe, 1996).

Для небольших неполярных (незаряженных) молекул молярный коэффициент распределения практически не отличается от единицы. Для одновалентных катионов (например, натрия) этот коэффициент превышает единицу и повышается пропорционально содержанию отрицательно заряженных ГАГ (по закону равновесия Доннана). Еще большее значение молярный коэффициент распределения имеет для двухвалентных катионов (например, кальция), а это означает, что концентрация катионов в матриксе хряща выше, чем в омываемой его жидкости.

Для анионов молярные коэффициенты распределения в матриксе меньше единицы, и транспорт электролитов в хрящ происходит более медленно, чем незаряженных молекул (диффузия глюкозы, например, идет быстрее, чем сульфата натрия). В целом, по расчетам Maroudas (1979) диффузия всех низкомолекулярных веществ достаточна для обеспечения потребности хондроцитов. Исключением является кислород, который в синовиальной жидкости находится в очень низкой концентрации, вследствие чего метаболизм хондроцитов имеет анаэробный характер, осуществляясь за счет гликолиза.

Диффузия питательных веществ имеет особое значение в полностью аваскулярном суставном хряще; в других его видах роль играют также кровеносные капилляры надхрящницы и зоны перикапиллярной циркуляции.

Особенности метаболизма (биосинтеза и катаболизма) основных компонентов хрящевой ткани были рассмотрены выше. Следует кратко остановиться на регуляции метаболических процессов. Важную роль играет гормональный контроль (Zibberman, 1983).

Глюкокортикоидные гормоны угнетают биосинтез коллагена и протеогликанов (особенно в сочетании с усиленной компрессией хряща); инсулин стимулирует синтез ГАГ и коллагена; гормон роста усиливает пролиферацию хондроцитов и продукцию матрикса, тироксин стимулирует биосинтез ГАГ; тестостерон активизирует, а эстрогенные гормоны, напротив, задерживают рост хрящей.

В регуляции участвуют и негормональные факторы: *простагландины* (особенно E_2) ингибируют биосинтез и активируют катаболизм протеогликанов и коллагена. Интерлейкин *I* стимулирует синтез катаболических ферментов. Все больше выясняется чрезвычайная сложность регуляции метаболизма хрящей, наличие многих контролирующих факторов в ткани хряща, синовиальной среде и крови.

Очень важна регулирующая роль матрикса относительно метаболизма хондроцитов (Urban, 1994). Удаление матрикса ферментами ведет к интенсификации хондроцитами биосинтеза недостающих компонентов по механизму обратной связи. Присутствие коллагена II типа

и протеогликанов необходимо для поддержания фенотипа хондроцитов в культуре (Kimura, 1984).

Регулирующая роль биомеханических факторов проявляется, например, в том, что при ограничении нагрузки и движения (иммобилизации) снижается продукция протеогликанов и коллагена и уменьшается масса хрящей (Tammi, 1983). Механическое сжатие усиливает, а растяжение задерживает хондрогенез мезенхимальных клеток. Более подробно о влиянии механических факторов смотрите в разд. 1.5 этой главы.

1.3.2. Эластический хрящ

У человека и высших позвоночных эластический хрящ имеется в ушной раковине, гортани и надгортаннике. Основным отличием от гиалинового хряща является то, что хондроциты эластического хряща, кроме коллагена II типа и сульфатированных ГАГ, секретирует другой соединительнотканый белок — эластин и специфические структурные гликопротеины, которые вместе и формируют эластические волокна, содержащиеся в эластическом хряще.

Следует выделить несколько уровней организации эластической ткани: молекулярный, ультраструктурный и органо-тканевой (Шехтер, 1978; Серов, 1981; Mantes, 1996; Ushiki, 2002), причем на каждом уровне специфика структурной организации определяет такое важнейшее свойство хряща, как его способность к обратимой деформации (эластичность).

Эластин — белок, чрезвычайно резистентный к растворителям и протеолитическим ферментам, кроме эластазы поджелудочной железы (панкреатопептидаза E). От других белков его отличает исключительная насыщенность неполярными аминокислотами (только 5% остатков несут заряженные боковые группы) и наличие десмозинов — уникальных тетрааминокислот. Каждая из них одновременно входит в состав нескольких соседних полипептидных цепей, соединяя их между собой (Foster, 1977). Благодаря такой молекулярной структуре эластин и эластические волокна обладают (подобно каучуку) способностью к значительному растяжению и последующему возвращению в исходное состояние.

Надмолекулярная структура эластина включает в себя упорядоченные участки — канатоподобные нити диаметром 3,5–40 нм и с центрами уплотнения с периодом 3,0–3,5 нм (Jotte, 1980). Эти данные расширяют представление о природе эластичности эластина, структура которого более сложно организована, чем у каучуковой резины.

Ультраструктурное изучение эластических волокон позволило установить, что они образованы двумя компонентами: аморфным, состоящим из белка эластина, и фибриллярным, состоящим из специфического структурного гликопротеина. Если в световом микроскопе эластические волокна, которые, окрашиваются орсеином,

резорцин (или альдегид)-фуксином (фукселином) или гематоксилином Верхофа, выглядят гомогенными лентовидными структурами, то при электронной микроскопии (Ross, 1971) в электронно-прозрачном матриксе волокон видны электронно-плотные микрофибриллы диаметром 10–12 нм (рис. 1.13). Они образуют сеть в краевых зонах

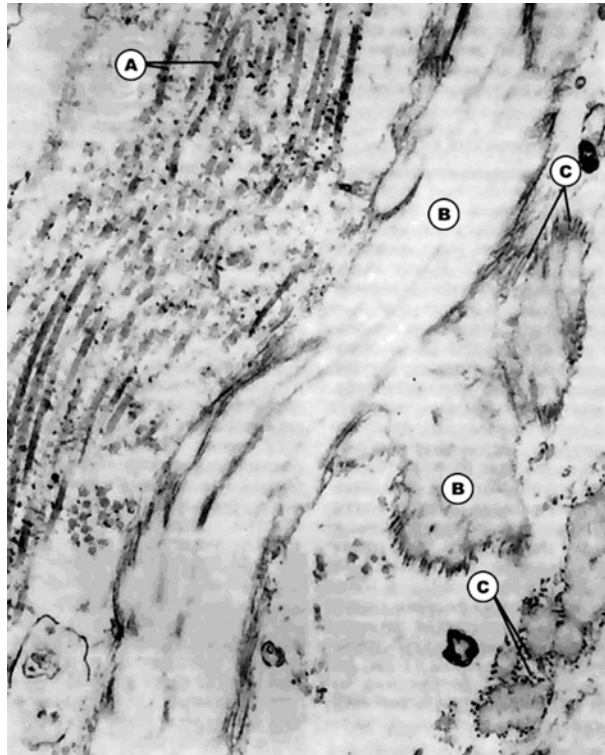


Рис. 1.13. Электронограмма эластических волокон, $\times 60000$. А — коллагеновые фибриллы; В — эластические волокна: аморфный, эластиновый компонент; С — эластические волокна: микрофибриллярный компонент

волокон и даже встречаются в центральных зонах (Шехтер, 1978; Омеляненко, 1983; Ross, 1973; Mantes, 1996; Ushiki, 2002).

Гликопротеиновый фибриллярный компонент составляет около 10% массы эластических волокон. Большинство из входящих в него белков не содержит гидроксипролина и гидроксизина, но один из белков имеет эти аминокислоты и рассматривается как коллаген VI типа (Knight, 1984).

Функциональное значение фибриллярного компонента эластических волокон еще не до конца ясно. Обычно указывают на морфоген-

нетическую функцию, так как в незрелых эластических волокнах развивающихся тканей сначала преобладает фибриллярный компонент, а затем он постепенно вытесняется аморфным компонентом (Ross, 1977).

Другой функцией фибриллярного компонента, по-видимому, является его влияние на биомеханические свойства эластических структур: относительно жесткий фибриллярный каркас ограничивает растяжимость волокон, и от соотношения обоих компонентов зависят биомеханические свойства эластических тканей, в том числе эластических хрящей (Шехтер, 1976; Cotta-Pereira, 1977; Mantes, 1996).

Структура эластического хряща с характеристикой клеточных элементов и матрикса более подробно будут рассмотрены в разд. 1.4.3.

1.3.3. Волокнистый (фиброзный) хрящ

Волокнистый хрящ во взрослом организме человека в норме находится в межпозвоноковых дисках (фиброзные кольца), в симфизе лобковых костей и также в местах прикрепления сухожилий к кости или хрящу. Он также замещает гиалиновый хрящ при репарации последнего после травмы, воспалительного или деструктивного процесса (например, при артрозах и артритах), возникает как провизорная (временная) остеогенная ткань при заживлении перелома костей.

Матрикс волокнистого хряща образован коллагеновыми волокнами, которые на гистологических препаратах в отличие от гиалинового хряща матриксом не маскируются. Протеогликаны волокнистого хряща по структуре близки к протеогликанам гиалинового хряща. Отличие заключается в значительно меньшем их содержании в волокнистом хряще, чем, собственно, и вызвано отсутствие маскировки волокон. Значительно сильнее отличия коллагенового компонента матрикса. Примерно 98% коллагена — это смесь коллагена I и II типов. (Павлова, 1988). Около 2% коллагена составляют минорные коллагены IX, VI, III, IV, V, реже X типов (Roberts, 1991; Nerlich, 1997).

Микроархитектоника волокнистого хряща отличается высокой упорядоченностью расположения коллагеновых волокон и формируемых ими пучков. Их направление строго соответствует векторам сил натяжения и давления. Волокна и пучки хорошо выявляются на срезах гистологическими окрасками и при поляризационной микроскопии (обладают двойным лучепреломлением). Обычно они располагаются параллельно друг другу (в фиброзном кольце особая архитектура), причем основные пучки (толщиной 40–70 нм), соединяются более тонкими волокнами.

Клетки волокнистого хряща отличаются как от хондроцитов гиалинового хряща, так и от фибробластов. Они более крупные и округлые, чем фибробласты, располагаются рядами или слоями между пучками коллагеновых волокон (рис. 1.14). Лакуны не так четко выражены, как в гиалиновом хряще. Между клетками в рядах находится базофиль-

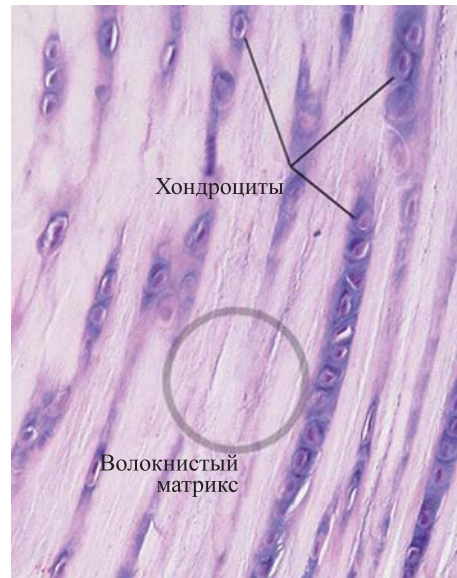


Рис. 1.14. Волокнистый хрящ фиброзного кольца межпозвонкового диска. Видны группы хондроцитов, расположенные между слоями коллагеновых волокон. Окраска гематоксилином и эозином; $\times 250$

ное межклеточное вещество, близкое к матриксу гиалинового хряща, а базофилия обусловлена высокой концентрацией сульфатированных ГАГ, которые дают так же метахромазию при окраске толуидиновым синим, и окрашиваются альциановым синим, сафранином O. Коллагеновые пучки при гистохимических окрасках содержат меньше ГАГ, чем гиалиновый хрящ, но значительно больше ГАГ, чем все другие виды плотной соединительной ткани.

Тот факт, что хрящевая клетка волокнистого хряща продуцирует коллаген не только II, но и I типа, и матрикс не маскирует волокна, дало некоторым исследователям основание считать эти клетки фибробластами, а волокнистый хрящ не причислять к истинным хрящам (Boude, 1983). Однако большинство исследователей признает целесообразность общепринятой классификации, учитывая ряд важных структурных и функциональных показателей (более подробно см. в разделе 1.4.2).

1.4. Особенности строения хрящей в различных анатомических структурах

В данном разделе мы рассмотрим суставной хрящ, а также хрящи межпозвоночного диска, ушной раковины и носовой перегородки,