

## ВПЛИВ КУЛЬТИВОВАНИХ ХОНДРОЦИТІВ НА РЕПАРАТИВНИЙ ХОНДРОГЕНЕЗ ПРИ ІМПЛАНТАЦІЇ В ТРАВМАТИЧНИЙ ДЕФЕКТ СУГЛОБОВОГО ХРЯЩА (експериментальне дослідження)

С. С. Страфун<sup>1</sup>, Д. О. Зубов<sup>2</sup>, А. Т. Бруско<sup>1</sup>, О. А. Костогрыз<sup>1</sup>, Р. Г. Васильєв<sup>2</sup>, Л. І. Остапченко<sup>3</sup>  
<sup>1</sup>ДУ “Інститут травматології та ортопедії НАМН України”, м. Київ  
<sup>2</sup>ДУ “Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України”, м. Київ  
<sup>3</sup>ННЦ “Інститут біології”, Київський національний університет імені Т. Шевченка, Україна

### **INFLUENCE OF CULTIVATED CHONDROCYTES ON REPARATIVE CHONDROGENESIS WITH IMPLANTATION INTO INJURED ARTICULAR CARTILAGE (experimental study)**

S. S. Strafun, D. O. Zubov, A. T. Brusko, O. A. Kostogryz, R. G. Vasiliev, L. I. Ostapchenko

*In experimental investigation with grown-up dogs the technology of cultivation and transplantation on the carrier (2% agarous hydrogel) of allogenic chondrocytes of articular cartilage with traumatic osteochondral defect of subpatellar sulcus of dog's femur have been defined more exactly. The parameters of growth culture kinetics have been studied ex vivo including inoculation efficiency of chondrocytes cells of articular cartilage as well as their influence on reparative chondrogenesis at early terms of observation (3 months) have been shown. A complete filling-up of osteochondral defect, presence of accurate integration of the regenerate with the edges of the adjacent articular cartilage, formation of the cell regenerate consisted of the areas of fibrous connective tissue and the chondroid that was typically for early terms of reparative regeneration of articular cartilage with application of cellular technologies.*

*Key words: chondrocytes culture, kinetics of cellular culture growth, agarous hydrogel carrier, preclinical investigation, osteochondral defect, chondrocyte transplantation.*

### **ВЛИЯНИЕ КУЛЬТИВИРОВАННЫХ ХОНДРОЦИТОВ НА РЕПАРАТИВНЫЙ ХОНДРОГЕНЕЗ ПРИ ИМПЛАНТАЦИИ В ТРАВМАТИЧЕСКИЙ ДЕФЕКТ СУСТАВНОГО ХРЯЩА (экспериментальное исследование)**

С. С. Страфун, Д. А. Зубов, А. Т. Бруско, О. А. Костогрыз, Р. Г. Васильев, Л. И. Остапченко

*В экспериментальном исследовании на собаках с законченным ростом уточнена технология культивирования и пересадки на носителе (2% агарозный гидрогель) аллогенных хондроцитов суставного хряща при травматическом остеохондриальном дефекте подпателлярной борозды бедренной кости собаки. Изучены ex vivo параметры кинетики роста культуры и эффективность посева клеток хондроцитов суставного хряща, а также их влияние на репаративный хондрогенез в ранние сроки наблюдения (3 мес.). Показано полное заполнение остеохондриального дефекта, наличие четкой интеграции регенерата с краями прилежащего суставного хряща, формирование клеточного регенерата, состоящего из участков фиброзной соединительной ткани и хондроиды, что характерно для ранних сроков репаративной регенерации суставного хряща при применении клеточных технологий.*

*Ключевые слова: культура хондроцитов, кинетика роста клеточной культуры, агарозный гидрогель-носитель, доклиническое исследование, остеохондриальный дефект, трансплантация хондроцита.*

## Вступ

На сьогодні розробляється низка методів лікування дефектів суглобового хряща із застосуванням культивованих аутологічних або алогенних клітин [1–3, 5–13, 16]. Однак перед широким впровадженням нового методу, що включає носії (scaffolds), клітини з різних тканинних джерел, тканини та біологічно-активні фактори, біобезпека та ефективність їх застосування має бути продемонстрована як у доклінічних дослідженнях, що базуються на ре-

levantних тваринних моделях, так і в подальших клінічних випробуваннях нової клітинної терапії. Тобто кожна нова терапія дорослих пацієнтів повинна бути перевірена на експериментальних тваринах, що досягли зрілості скелета та суглобового хряща. Найбільша перевага експериментальних досліджень з використанням тварин полягає в можливості контролю розміру і глибини ушкодження, топології дефекту та тривалості експерименту.

Гістологічні дані використовують для встановлення наявності імплантата в ділянці дефекту, порівняння та оцінки

в динаміці особливостей формування суглобового хряща при застосуванні різних клітинних культур та носіїв.

**Мета** експериментального дослідження — оптимізувати технології культивування клітин та вивчити вплив на формування суглобового хряща імплантованих у свіжий травматичний остеохондріальний дефект алогенних культивованих хондроцитів на носії (2% агарозний гідрогель).

## Матеріали і методи

### Ізоляція та культивування хондроцитів суглобового хряща

Ізоляцію хондроцитів суглобового хряща собаки ( $n=4$ ,  $M_m=3,0$  г) проводили за загальноприйнятими методиками [15]. Тобто, для ферментативного дезагрегування тканинного біоптату використовували 0,2% розчин колагенази IA (Sigma, США). Отримані клітинні суспензії висівали в культуральні флакони (Corning, США) площею  $25 \text{ cm}^2$  зі щільністю посіву  $4 \times 10^4 / \text{cm}^2$ . Хондроцити культивували у суміші поживного середовища DMEM/F12, 1:1 (Sigma-Aldrich, США) з додаванням 10% ембріональної телячої сироватки (Sigma-Aldrich, США), 2 мМ L-глутаміну (Sigma-Aldrich, США), 100 МО/мл пеніциліну та 100 мкг/мл стрептоміцину (Sigma-Aldrich, США), у  $\text{CO}_2$ -інкубаторі (Joan, Франція) при  $37^\circ\text{C}$  та 5% атмосфері  $\text{CO}_2$  і насичуючий вологості. Середовище змінювали кожні 3–4 доби культивування.

### КУО-аналіз (колонієутворююча одиниця)

Процес колонієутворення досліджуваного типу клітин вивчали шляхом посіву 102 клітин на чашку Петрі ( $\text{Ø}100$  мм, Costar, США) у ростовому середовищі, що містило DMEM/F12, 1:1 (Sigma, США) з додаванням 10% ембріональної телячої сироватки (Sigma, США), 2 мМ L-глутаміну (Sigma, США), 100 МО/мл пеніциліну та 100 мкг/мл стрептоміцину (Sigma, США). Культивували в  $\text{CO}_2$ -інкубаторі (Joan, Франція) при  $37^\circ\text{C}$  і 5% атмосфері  $\text{CO}_2$  та насичуючий вологості протягом 14 діб [4, 15]. Надалі колонії фарбували кристалічним фіолетовим та підраховували. Ефективність посіву — PE (plate efficiency), % — визначали за формулою:

$$\text{PE, \%} = n_{\text{колоній}} / n_{\text{клітин}} \times 100, \quad (1)$$

де  $n_{\text{колоній}}$  — кількість сформованих колоній;  $n_{\text{клітин}}$  — кількість посіяних клітин.

### Кінетика росту клітинних популяцій культивованих хондроцитів

Число клітинних подвоєнь ( $n$ ) та час подвоєння клітинної популяції ( $t$ ) за умов, що остання знаходиться у фазі логарифмічного росту в межах стандартної кривої росту клітинної популяції, визначали за загальноприйнятими формулами [4]:

$$n = C \lg (X_k / X_0), \quad (2)$$

$$t = T / C \lg (X_k / X_0), \quad (3)$$

де  $C$  — константа переведення логарифму в десятичний логарифм для клітин, що культивуються;  $X_0$  — число посіяних клітин;  $X_k$  — число вирощених клітин;  $T$  — тривалість логарифмічної фази росту культури клітин.

### Виготовлення клітинного носія на основі агарозного гідрогелю і культивованих хондроцитів

Для приготування 2% агарозного гідрогелю з первинними культивованими хондроцитами в алогенному варіанті використовували агарозу з показниками міцності для 1% гідрогелю  $\geq 1200 \text{ г/см}^2$  та точкою гелеутворення  $36,0 \pm 1,5^\circ\text{C}$  (Sigma, США) та поживне середовище DMEM-HG (з 4,5 г/л глюкози, РAA, Німеччина). Полімеризований агарозний гідрогель виготовляли в лунках 24-лункової плашки (Corning, США) з концентрацією  $10^7$  клітин/мл/лунку. Хондроцити із гідрогелю ізолювали 0,02% розчином ЕДТА (хелатуюча речовина) та перевіряли на життєздатність методом фарбування 0,4% розчином трипанового синього.

### Моделювання остеохондріальних дефектів у тварин

Експерименти на тваринах проводили згідно з вимогами “European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes” (Strasbourg, 18.03.1986, ratification date 01.01.1991, CETS № 123) та положеннями заключного документа щодо “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, прийнятому на першому національному конгресі з біоетики (Україна, Київ, 17–20 вересня 2001 р.).

Експериментальне дослідження виконано на 8 безпородних дорослих собаках з середньою початковою масою тіла  $15,3 \pm 2,1$  кг, у яких хірургічно під кетаміновим наркозом після артротомії колінного суглоба на ділянці піднадколінкової борозни правої стегнової кістки отримували свердлом діаметром 3 мм травматичний остеохондріальний дефект, глибиною 5 мм (рис. 1 на с. 8).

- До *основної групи* дослідів увійшли собаки (4 тварини), яким після кюретажу дна і стінок у кістково-хрящовий дефект імплантували за типом аплікації агарозний гідрогель з культивованими хондроцитами і рану суглобової капсули зашивали.

- До *контрольної групи* дослідів увійшли собаки (4 тварини), у яких отримували аналогічний за технологією та топологією кістково-хрящовий дефект, як і в основній групі дослідів, але без імплантації культивованих хондроцитів.

Після операції тварин утримували в звичайних умовах віварію. Операційний період перебігав без ускладнень. Усі тварини навантажували оперовану кінцівку вже з першого-другого дня після хірургічного втручання. За 3 міс. після хірургічного втручання у тварин під кетаміновим наркозом у стерильних умовах артроскопічно отримували біоптати з ділянки оперативного дефекту. Узятий біопсійний матеріал фіксували в 10% розчині забуферованого формаліну ( $\text{pH}=7,6$ ), декальцинували в 5% азотній кислоті і після знежирювання та зневоднення в ацетонах та спиртах наростаючої міцності заливали в парафінові блоки. Гістологічні зрізи, товщиною 10–15 мкм, фарбували гематоксиліном та еозином, а також пікрофуксином за ван Гізоном.

### Візуалізація клітинних культур з використанням методів мікроскопії

Візуалізацію з використанням світлової та фазово-контрастної мікроскопії та фотодокументування культур

клітин проводили за допомогою інвертованого мікроскопа Axiovert 40C, морфометричної програми з обробки зображення AxioVision Rel. 4.8 і камери AxioCam ERC 5s (Karl Zeiss, Німеччина). Клітинні препарати та культури мікроскопували при 40-, 100-, 200- та 320-разовому збільшенні.

#### *Методи статистичної обробки результатів*

Кількісні характеристики випадкових величин представлені у вигляді середніх значень та стандартних похибок середніх значень. Значимість розбіжностей показників оцінювали за *t*-критерієм Стьюдента.

## Результати та їх обговорення

*Ізоляція та культивування аlogenних хондроцитів суглобового хряща.*

#### *Культура хондроцитів*

Апробовано та оптимізовано методику ізоляції хондроцитів суглобового хряща собаки за допомогою ферментативного методу. Ізоляція колагеназою IA виявилася ефективною при концентрації 0,2% та часу ферментації 60 хв.

Одержані культури хондроцитів субкультивували до третього пасажу, що було достатньо для одержання терапевтично значимої кількості клітин ( $10^7$ /мл носія), та зберігали в рідкому азоті. Культивували хондроцити за стандартних умов із застосуванням ростового середовища, що містило DMEM/F12 та 10% ембріональної телячої сироватки. Максимальний коефіцієнт пасерування, за умов одержання культур клітин, що активно проліферують, становив 1:10.

У середньому, з суглобового хряща, масою 3,0 г, виділяли  $5,3 \times 10^6$  хондроцитів. Первинно виділені клітини після адгезії до культурального флакону починали проліферувати з 2-ї доби. Морфологічно хондроцити первинної культури мали вигляд розшарованих округлих епітеліодних клітин з повільною проліферацією, які формували клітинні кластери. Неконфлюентні культури цього клітинного типу склалися з окремих клітинних колоній, витягнутих у довжину або багатограних, що містили різну кількість клітин (до 30–50), деякі колонії клітин зливалися. Така притаманна культивованим хондроцитам морфологія клітин зберігалася протягом трьох пасажів без ознак зміни їх на фібробластичну лінію диференціювання і є характерною для хондроцитів у дедиференційованому стані (рис. 2 на с. 8).

#### *КУО-аналіз*

Формування колоній на чашках Петрі при низьких посівних концентраціях клітин (наприклад:  $10^2$  клітин на чашку Петрі), або, іншими словами, визначення *ефективності посіву* (PE, %) є переважним методом аналізу проліферації клітин у культурі та їхньої виживаності.

Такий підхід демонструє різницю у швидкості росту культури в межах популяції та виявляє різницю в зміні швидкості росту (розмір колонії) та виживаності клітин (число колоній). При посіві клітинної суспензії в чашках Петрі в низькій концентрації клітини проліферують і формують дискретні колонії. Число цих колоній може

бути використаним для оцінки ефективності культивування обраного типу клітин [4].

Нами досліджено колонієутворюючий потенціал хондроцитів на третьому пасажі методом КУО-аналізу згідно з протоколом D. Proctor для стромальних клітин [15]. Так, на 100 клітин, у середньому за 14 діб, утворювалося  $44,2 \pm 4,5$  колоній,  $n=5$ , а ефективність посіву хондроцитів становила близько 44%.

#### *Кінетика росту культивованих хондроцитів*

Найважливішими параметрами оцінки ефективності вирощування клітин *in vitro* є такі параметри кінетики росту, як *число клітинних подвоєнь* у популяції та *час подвоєння клітинної популяції* за умов, що остання знаходиться у фазі логарифмічного росту в межах стандартної кривої росту клітинної популяції [4].

За нашими розрахунками, число клітинних подвоєнь, або кількість випадків реплікації ( $n$ ), у популяціях хондроцитів протягом трьох пасажів становило в середньому 4,4. Час подвоєння клітинної популяції хондроцитів — це час, протягом якого відбувається подвоєння чисельності або маси популяції ( $t$ ), становив у середньому 35 год.

#### *Виготовлення агарозного гідрогелю як тривимірного носія для культивованих хондроцитів*

Приготований в асептичних умовах 4% рідкий розчин агарози з температурою 37°C у поживному середовищі DMEM-HG швидко та ретельно змішували 1:1 з суспензією культивованих хондроцитів третього пасажу та розливали по лункам 24-лункової плашки до полімеризації. У результаті одержували полімеризований за кімнатної температури 2% агарозний гідрогель з концентрацією  $10^7$  клітин/мл/лунку. Полімеризований гідрогель з клітинами в лунках заливали по 1 мл поживного середовища DMEM-HG та культивували в  $CO_2$ -інкубаторі за температури 37°C протягом 14 діб з повною зміною ростового середовища двічі на тиждень. Надалі клітини ізолювали з агарозного гідрогелю за допомогою 0,02% розчину ЕДТА (розчин Версена) та оцінювали їхню життєздатність методом фарбування трипановим синім, яка становить 94%.

#### *Вплив імплантованих у носії хондроцитів на перебіг хондрогенезу при моделюванні кістково-хрящових дефектів*

Гістологічно в суглобових кінцях кісток колінного суглоба тварин обох дослідних груп за 90 днів після хірургічного втручання виявляли більш або менш виражені патологічні зміни, що топографічно відображають поєднання дистрофічних, некротичних та репаративно-замісних процесів.

У спостереженнях з отриманням остеохондріально-го дефекту без наступної імплантації агарозного гідрогелю з культивованими хондроцитами (контрольна група тварин) на суглобовій поверхні піднадколінкової борозни стегнової кістки спостерігали зміни, що відповідали гістологічній картині гонартрозу:

- 1) суглобовий хрящ нерівномірно витончений;
- 2) виражена дистрофія та розволокнення хрящового матриксу;

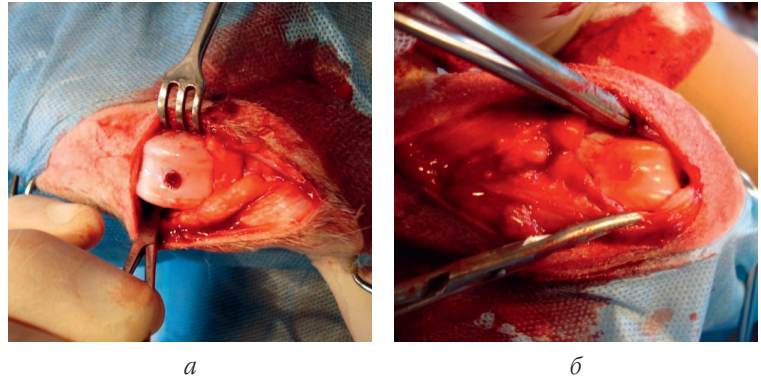


3) помірна деформація поверхневої зони суглобового хряща з розвитком тонкого шару фіброзного панусу (рис. 3).

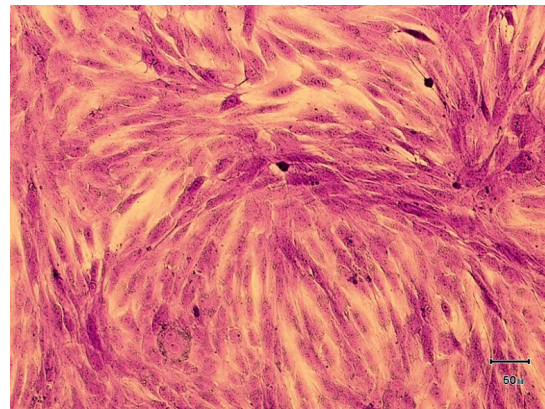
Остеохондріальний дефект у тварин цієї групи тільки частково був заповнений новоутвореною фіброзною сполучною тканиною, яка містила ділянки хондрідноподібних клітин та, іноді, й кісткові перекладки (рис. 3в). Формування підхрящової кісткової пластинки на ділянці дефекту не спостерігали. Оскільки деструкція, заміщення і проліферація хондроцитів виражені слабо та відбуваються нерівномірно, вони тільки частково забезпечують заміщення зруйнованого суглобового хряща.

В умовах імплантації в остеохондріальний дефект агарозного гідрогелю з культивованими хондроцитами репаративний хондрогенез перебігав більш активно. Дефекти суглобових поверхонь заповнювалися повністю переважно хондрідним, менше фіброзним регенератом, вкритим з боку суглобової порожнини тонким шаром фіброзної сполучної тканини. Спостерігали тісну інтеграцію новоутворених тканин регенерату з тканинною структурою суглобового хряща країв дефекту. У суглобовому хрящі навколо дефекту виявляли більш-менш виражені явища дегенеративно-деструктивних змін, переважно його поверхневої та проміжних зон, та утворення багатоклітинних кластерів (проліфератів), що властиве процесу неповноцінної репаративної регенерації суглобового хряща (рис. 4).

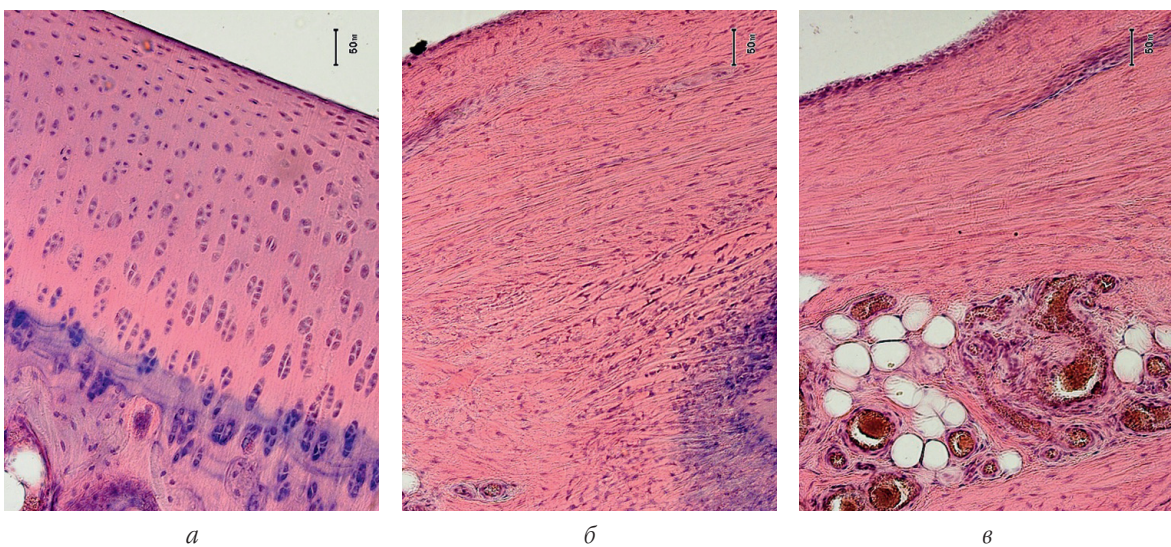
Отже, імплантація культивованих аlogenних хондроцитів в агарозному гідрогелі



**Рис. 1.** Моделі остеохондріальних дефектів ділянки піднадколінкової борозни стегнової кістки:  
*a* — без заповнення дефекту — *контрольна група* тварин;  
*б* — із заповненням дефекту агарозним гідрогелем з культивованими хондроцитами — *основна група* тварин

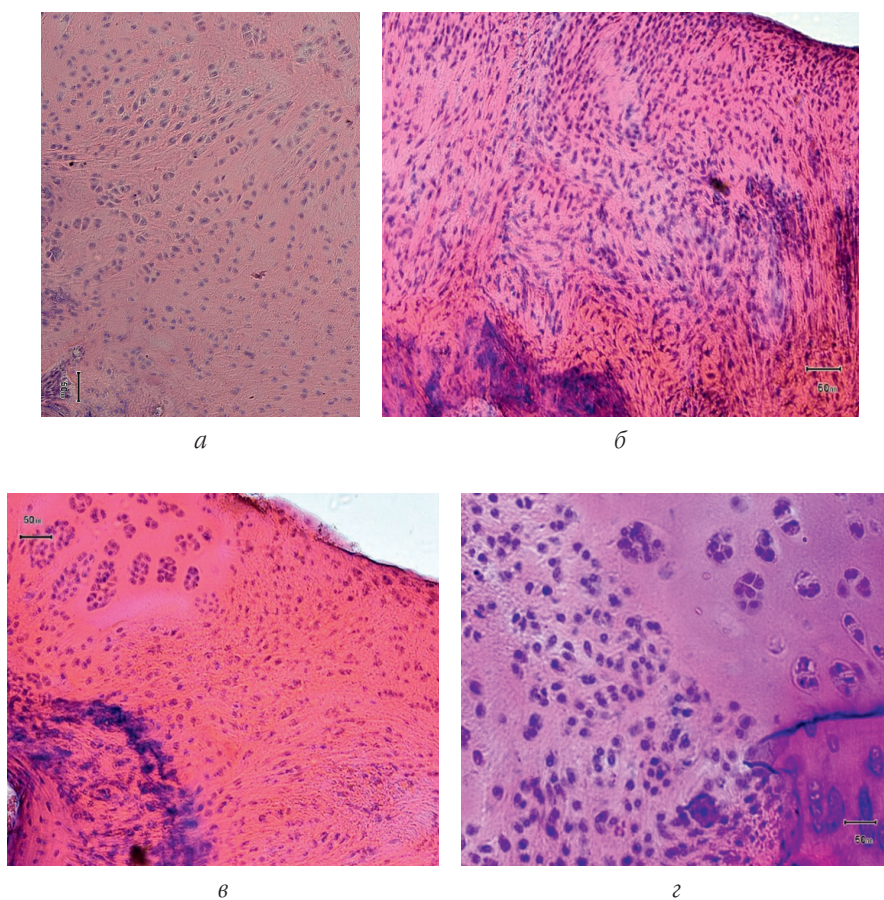


**Рис. 2.** Мікрофото культури клітин після першого пасажу хондроцитів суглобового хряща. Кристалічний фіолетовий. ×100



**Рис. 3.** Мікрофото. Фіброзний та фіброзно-жировий регенерат, що утворився на 90-ту добу після нанесення остеохондріального дефекту на піднадколінковій борозні стегнової кістки у тварин *контрольної групи*: гістологічна структура гіалінового хряща в нормі (*a*); заміщення дефекту фіброзною (*б*), фіброзно-жировою та кістковою (*в*) тканинами. Гематоксилін еозин. ×100





**Рис. 4.** Мікрофото. Неповноцінна репаративна регенерація суглобового хряща. 90 діб після нанесення остеохондріального дефекту в піднадколінковій борозні стегнової кістки та заповнення агарозним гідрогелем з культивованими хондроцитами. Компоненти регенерату: *а* – хондроїд (гематоксилін еозин.  $\times 100$ ); *б* – фіброзна тканина неоднорідної будови і волокнистий хрящ з осередками хондроїду (ван Гізон.  $\times 100$ ); *в, г* – кластери хондроцитів у крайовій ділянці неушкодженого суглобового хряща (відповідно ван Гізон.  $\times 100$ ; гематоксилін-еозин.  $\times 400$ )

( $10^7$  клітин/мл гідрогелю) в умовах цього експерименту не призвела до значної оптимізації репаративного відновлення суглобового хряща в строк спостереження (3 міс.): у дефекті формувалася регенерат переважно за рахунок хондроїдної тканини, що містила ділянки фіброзної тканини, що повністю заповнювали дефект, навколо якого спостерігали більш-менш поширені ділянки деструкції суглобового хряща та гіперцелюлярні кластери, поверхня регенерату з боку суглобової порожнини була вкрита тонким шаром сполучнотканинного панусу. Чітко визначалась інтеграція регенерату та прилеглих країв дефекту суглобового хряща. Отримані нами дані збігаються з висновками ICRS (International Cartilage Repair Society) Recommendation Papers [14], згідно з якими для цього строку спостереження (3 міс.) у великих тварин, до яких належать і собаки, характерними ознаками регенерату, що формується, є його незрілість, наявність ділянок хондроїдної тканини, що містить осередки фіброзної сполучної тканини та фіброзного хряща. Крім того, слід вважати, що біопсія в ранні строки (перша доба – третій місяць) може бути корисною для вивчення процесів перетворення імплантата, формування та інтеграції регенерату з тканиною ділянки дефекту, визначення механізмів і причин

невдалої імплантації та взаємодіючих факторів, що сприяють чи вадять процесам відновлення ушкодженого суглобового хряща.

## Висновки

1. Запропонована технологія ферментативної ізоляції хондроцитів дозволяє отримати з 3,0 г суглобового хряща  $5,3 \times 10^6$  клітин. Трикратне пасирування хондроцитів дає змогу наростити терапевтично значиму кількість проліферуючих клітин ( $10^7$  клітин/мл гідрогелю) без тенденції до їхнього дедиференціювання у фібробластодіні клітини.
2. Методика виготовлення тривимірного носія для культивованих хондроцитів на основі 2% агарозного гідрогелю забезпечує у 94% життєздатність хондроцитів при культивуванні в гідрогелі протягом 14 діб.
3. Ефективність посіву ізолюваних хондроцитів суглобового хряща після третього пасажу, за даними КВО-аналізу, становить 44%. Число клітинних подвоєнь хондроцитів протягом трьох пасажів (у середньому  $n=4,4$ ) та час подвоєння клітинної популяції хондроцитів (у середньому  $t=35,3$  год) свідчать про оптимальну кінетику росту клітинної популяції.

4. Патогістологічні дослідження біоптатів, взятих у тварин із ділянки дефекту суглобового хряща піднадколінкової борозни за 3 міс. після нанесення травми, яким не імплантували агарозний гідрогель з культивованими хондроцитами, виявили часткове заповнення остеохондріального дефекту переважно фіброзним регенератом. Патоморфологічні зміни суглобового хряща на ділянці дефекту відповідали дегенеративно-дистрофічним процесам, характерним для гонартрозу.

5. Імплантація в кістково-хрящовий дефект піднадколінкової борозни культивованих в агарозному гідрогелі аlogenних хондроцитів суглобового хряща активно сприяє репаративному формуванню регенерату та його інтеграції з оточуючими тканинними структурами, що протягом 3-х міс. призводить до повного заповнення дефекту незрілою хондрійною тканиною та фіброзним хрящем.

## Література

1. Дев П.В. Анализ рынка клеточных препаратов для коррекции патологии скелетных тканей / П.В. Дев // Клет. транспл. и ткан. инженер. — 2006. — № 2 (4). — С. 78–83.
2. Зубов Д.О. Остеоимунітет та культивовані мезенхімальні стовбурові клітини / Д.О. Зубов, В.М. Оксимець // Міжвідомч. зб. наук. праць “Проблеми екології та охорони природи техногенного регіону”. — Д.: ДонНУ, 2008. — Вип. 8. — С. 324–331.
3. Наш перший досвід хірургічного лікування посттравматичного дефекту суглобового хряща колінного суглоба аутологічними хондроцитами / Анкін М.Л., Костогриз О.А., Гринь В.К. [та ін.] // Літопис травматол. та ортопед. — 2008. — № 1–2. — С. 136–138.
4. Фреши Р.Я. Культура животных клеток : [практическое руководство] / Р.Я. Фреши; пер. 5-го англ. изд. — М.: Бином. Лаборатория знаний, 2010. — 691 с.
5. Alford J.W. Cartilage restoration, part 2 : techniques, outcomes, and future directions / J.W. Alford, B.J. Cole // Am.J. Sports Med. — 2005. — Vol. 33, № 3. — P. 443–460.
6. Bedi A. Management of articular cartilage defects of the knee // Bedi A., Feeley B.T., Williams R.J. // J. Bone Jt Surg. — 2010. — Vol. 92-A, № 4. — P. 994–1009.
7. Brittberg M. Cartilage surgery : an operative manual / M. Brittberg, W. Gersoff. — Elsevier Saunders, 2011. — 320 p.
8. Cartilage repair : past and future. Lessons for regenerative medicine / van Osch G., Brittberg M., Dennis J.E. [et al.] // J. Cell. Mol. Med. — 2009. — Vol. 13, № 5. — P. 792–810.
9. Cole B.J. Surgical management of articular cartilage defects in the knee // Cole B.J., Pascual-Garrido C., Grumet R.C. // J. Bone Jt Surg. — 2009. — Vol. 91-A, № 7. — P. 1778–1790.
10. Emerging options for treatment of articular cartilage injury in the athlete / Mithoefer K., McAdams T.R., Scopp J.M. [et al.] // Clin. Sports Med. — 2009. — Vol. 28, № 1. — P. 25–40.
11. Le Blanc K. Multipotent mesenchymal stromal cells and the innate immune system / K. Le Blanc, D. Mougiakakos // Nat. Rev. — 2012. — Vol. 12. — P. 383–396.
12. Mesenchymal cell-based repair of large, full-thickness defects of articular cartilage / Wakitani S., Goto T., Pineda S.J. [et al.] // J. Bone Jt Surg. — 1994. — Vol. 76-A. — P. 579–592.
13. Mesenchymal stem cells avoid allogeneic rejection / Ryan J.M., Barry F.P., Murphy J.M. [et al.] // J. Inflamm. — 2005. — Vol. 2, № 8. — P. 1–11. — Режим доступу до журн. : <http://www.journal-inflammation.com/content/2/1/8>.
14. Preclinical studies for cartilage repair : Recommendations from the International Cartilage Repair Society (ICRS Recommendation Papers) / Hurtig M.B., Buschmann M.D., Fortier L.A. [et al.] // Cartilage. — 2011. — Vol. 2, № 2. — P. 137–152.
15. Prockop D.J. Mesenchymal stem cells : methods and protocols / Prockop D.J., Phinney D.G., Bunnell B.A. — Totowa, NJ : Humana Press, 2008. — 192 p.
16. Wakitani S. Response of the donor and recipient cells in mesenchymal cell transplantation to cartilage defect / S. Wakitani, T. Yamamoto // Microsc. Res. Tech. — 2002. — Vol. 58, № 1. — P. 14–18.

УДК 616.728.2–007.24–036

## ФОРМИ ПРОГРЕСУВАННЯ ОСТЕОАРТРОЗУ КУЛЬШОВОГО СУГЛОБА

Г.В. Гайко, О.В. Калашніков  
ДУ “Інститут травматології та ортопедії НАМН України”

### PROGRESSION FORMS OF HIP JOINT OSTEOARTHRITIS

G. V. Gayko, O. V. Kalashnikov

Working classification of hip joint osteoarthrosis course has been developed on the basis of literary data and own investigations of 380 patients with hip joint osteoarthritis of the IV-th stage in accordance with J. H. Kellergen and J. S. Lavrance. In our work we mark out the following progression forms, namely: fast form, middle and slow form. It has been proved that hip joint osteoarthrosis of different etiology is characterized by various course disease and has its own features in accordance with results of clinical,