

Ubytki tkanki chrzęstnej i ich regeneracja w stawach u koni

Olga Drewnowska, Bernard Turek

z Katedry Chorób Dużych Zwierząt z Kliniką Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie

Tkanka chrzęstna jest narażona na duże napięcia i obciążenia. Jednocześnie ma bardzo ograniczone możliwości regeneracji. Od wielu dziesięcioleci mechanizm jej gojenia się interesował badaczy, a w medycynie weterynaryjnej szczególnie często z tym zagadnieniem spotykają się lekarze leczący konie. U tego gatunku na skutek intensywnego użytkowania dochodzi do powstania urazów, ubytków chrząstek stawowych oraz ich niekompletnej regeneracji i chorób rozwojowych, np. osteochondrozy. W artykule dokonano przeglądu badań opisanych na przestrzeni ostatnich 40 lat na temat ubytków tkanki chrzęstnej w chrząstkach stawowych i ich zdolności do naprawy.

Istnieją trzy główne sposoby, którymi organizm stara się naprawić ubytki:

- 1) wewnątrzchrząstkowy – wykorzystujący ograniczoną zdolność chondrocytów do podziałów oraz krótki wzrost stężenia kolagenu i proteoglikanów w przestrzeni międzykomórkowej;
- 2) zewnątrzchrząstkowy – opierający się na strukturach mezenchymalnych, pochodzących z tkanki podchrzęstnej, które biorą udział w formowaniu się nowej tkanki łącznej; ma ona możliwość metaplastji w tkankę chrzęstną szklistą;

3) przepływowy – gdy zwiększony przepływ mazi w stawie pozwala na napływ większej ilości składników odżywiających chrząstkę; szczególną rolę odgrywa w gojeniu się ubytków powierzchniowych – w ciągu 2,5 miesiąca ta metoda potrafiła zmniejszyć ubytek od 50 do 90% (1,2), natomiast nie obserwuje się tak dobrych wyników przy dużych ubytkach (3). Klinicznie przyjmuje się dwa podstawowe cele naprawienia chrząstki: zachowanie jej funkcji oraz zapobieganie lub przynajmniej opóźnienie rozwoju stanu zwyrodnieniowego (4).

Stopień zregenerowania chrząstki po urazie jest zależny od: rozmiaru, grubości i umiejscowienia ubytku, okresu rekonwalescencji, stopnia obciążania chrząstki (5) oraz wieku zwierzęcia (3)

Roźmiar ubytku

Istnieje bariera wielkości ubytku, który może zostać całkowicie naprawiony przez organizm. Przeprowadzono badania, w których dokonano usunięcia ścianów chrząstki stawowej o wymiarach 3 × 3 × 3 mm, 9 × 9 × 9 mm, 15 × 15 × 15 mm oraz 21 × 21 × 21 mm z kości udowej

u dorosłych kucy szetlandzkich. Najmniejsze zostały wykonane na powierzchni nieobciążanej, a reszta – na obciążanej. Tylko najmniejsze uszkodzenie zostało wypełnione tkanką chrzęstną włóknistą już po 3 miesiącach, natomiast nawet po 9 miesiącach, żadne z większych uszkodzeń nie wygoiło się w pełni (6).

Grubość ubytku

Tkanka chrzęstna nie jest unerwiona oraz unaczyniona, co odpowiada za jej niską zdolność do odnowy – dlatego jej powierzchniowe ubytki goją się gorzej od głębokich, sięgających tkanki podchrzęstnej. Jest to istotne, ponieważ z tej tkanki dochodzi do proliferacji tkanki mezenchymalnej i naprawy ubytku (5) oraz istnieje dostęp do komórek progenitorowych (7). Ponadto nowo powstała tkanka chrzęstna włóknista, tworząca się w ubytku jest lepiej zakotwiczona, gdy ubytek podda się łyżeczkowaniu, ale tylko gdy ten sięga tkanki podrzęstnej (8).

W przypadku ubytków częściowych chrząstki istnieje możliwość migracji komórek z mazi stawowej i ich przylegania do uszkodzonej tkanki chrzęstnej. Badania wykazały jednak, że komórki te nie przylegają na stałe z braku czynników mitogennych oraz antyadhezyjnego działania proteoglikanów (7).

Umiejscowienie ubytku

Chrząstki każdego stawu charakteryzują się inną biomechaniką, są narażone na inne napięcia i co za tym idzie, mają różne zdolności do regeneracji. W przypadku stawu

nadgarstkowego (który był dotychczas najlepiej zbadanym stawem pod kątem urazów tkanki chrzęstnej; 9), gdy zdarzają się niewielkie ubytki tkanki chrzęstnej, nie zaburzają one jego funkcji. Wyjęcie powstałego odłamu, który drażni tkankę, jest jedynym działaniem leczniczym, które wystarczy do odnowy tego stawu. Gdy jednak dojdzie do dużego ubytku, zazwyczaj należy spodziewać się rozwoju choroby zwyrodnieniowej stawu (6). Duże znaczenie ma również to, czy powierzchnia stawowa, na której jest obecny ubytek, jest znacznie obciążona.

Okres rekonwalescencji

Bardzo ważna jest też rola ruchu w postępowaniu pooperacyjnym lub leczniczym. Dowiedziono, że nacisk na powierzchnię stawową powoduje zwiększony ruch mazi stawowej, a co za tym idzie – przepływ składników odżywczych, niezbędnych do regeneracji (metoda przepływowa regeneracji; 1). Jest on szczególnie istotny w przypadku tkanki, takiej jak tkanka chrzęstna, gdzie obieg ten jest utrudniony ze względu na brak naczyń krwionośnych i limfatycznych, spełniających taką rolę w innych tkankach. Ponadto wczesny ruch powoduje wygładzenie powierzchni stawowej, usunięcie martwych fragmentów i skrzepów krwi (10).

Wiek zwierzęcia

Wraz z wiekiem zwierzęcia zmniejsza się efektywność regeneracji tkanek w organizmie. Generalnie gojenie się ubytków chrząstek i kości jest bardziej kompletne u młodych zwierząt, ponieważ chondrocyty mają większe zdolności mitotyczne, bardziej aktywną produkcję substancji międzykomórkowej oraz bogatsze ukrwienie, a co za tym idzie – lepsze odżywienie (3).

Stopień obciążenia chrząstki

Ważnym elementem jest również siła przyłożona potem do gojącej się chrząstki – udowodniono, że małe ubytki zupełnie odciążone goiły się dużo gorzej niż obciążane. Jest to logiczne, ponieważ tkanka chrzęstna, analogicznie do tkanki kostnej, potrzebuje przyłożonej siły, by odpowiednio do jej kierunku ułożyć komórki (1) w stosunku do sił działających i dzięki temu sprawić, aby chrząstka była przystosowana do ruchów danego stawu.

Omówienie

Podstawowym zagadnieniem w przypadku gojenia się ubytków chrząstek u koni jest fakt, że organizm nie wytwarza w miejscu ubytku prawidłowej tkanki chrzęstnej. Wysłunięto przypuszczenie, że głównym procesem uniemożliwiającym taką regenerację

jest kalcyfikacja uszkodzonej chrząstki – staje się ona wtedy barierą dla migrujących komórek tkanki łącznej włóknistej z warstwy podchrzęstnej. Dlatego w przypadku leczenia chirurgicznego zaleca się, aby poprzez łyżeczowanie oczyścić krawędzie ubytku ze zwapniałej chrząstki oraz przekszttałić ubytek powierzchniowy w głęboki, sięgający aż do tkanki podchrzęstnej.

Przeprowadzono doświadczenie analogiczne, jak przy badaniu zależności rozmiaru ubytku i zdolności regeneracji eksperymentalnie tworząc ubytki w chrząstce kości udowej u kucy szetlandzkich (6). Wykazało ono ryzyko powstawania torbieli podchrzęstnych w momencie, gdy dochodzi do ubytku sięgającego aż do tkanki podchrzęstnej. W takich przypadkach, mimo wypełnienia ich tkanką chrzęstną włóknistą (zarówno torbieli, jak i ubytków), gojenie nie przebiegało z całkowitą regeneracją (11).

Istotnym zagadnieniem jest wytrzymałość zregenerowanych ubytków, prześniętych tkanką chrzęstną włóknistą. Dotychczas została ona zbadana u królików. Odnowione ubytki były bardziej podatne na odeszczaleni niż zdrowa tkanka chrzęstna, a przez to mniej wytrzymała na powtarzające się obciążenia (12). Warto też wspomnieć, że nawet wygojone niewielkie ubytki mogą być początkiem zwyrodnienia. Udowodniono również, że regeneracja oraz sposób, w jaki postępuje (a co za tym idzie, możliwość wyleczenia) jest uwarunkowana genetycznie (13).

Obecnie podstawowymi chirurgicznymi metodami mającymi znaczenie w naprawie ubytków chrząstek są:

- 1) **przepłukiwanie**, znacząco zmniejszające ból stawowy, choć mechanizm jego działania nie został do końca poznany; uważa się, że przepływ dużej ilości płynu pomaga usunąć martwą tkankę, co przynosi długotrwałą ulgę zwierzęciu; najlepsze efekty uzyskuje się w kombinacji z usunięciem martwej tkanki (1, 7, 11, 13);
- 2) **mechaniczne usunięcie martwej tkanki**; uważa się, że martwa tkanka blokuje możliwość adhezji komórek naprawczych oraz powoduje ich martwicę; w przypadku pojedynczych, lokalnych zmian takie działanie daje bardzo dobry efekt, natomiast zdania są podzielone na temat użyteczności tej metody w leczeniu *osteoarthritis* (1, 7, 13, 14);
- 3) **abrazja (zeskrobywanie)** ma na celu usunięcie zwapniałej warstwy chrząstki z powierzchni w celu wzrostu nowej tkanki (13, 15, 26) i pobudzenie tym samym chondrocytów do regeneracji oraz zwiększenie jakości nowo powstałej tkanki (1, 14);
- 4) **łyżeczowanie**, pogłębienie ubytku aż do tkanki kostnej gąbczastej; umożliwia przemieszczanie się komórek mezenchymalnych z tkanki podchrzęstnej

Cartilage tissue lesions in equine joints and their regeneration

Drewnowska O., Turek B., Department of the Large Animal Diseases with the Clinic, Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences – SGGW

The aim of this paper was to present a complex issue of injury and joints cartilage healing in horses. The cartilage tissue in joints is put under significant pressure especially in these animals. It has, however limited ability to regenerate. There are 3 different ways, in which the cartilage repairs itself: intrinsic, extrinsic and by matrix flow. Stage of cartilage injury/degeneration depends on lesions size, its full-thickness or partial-thickness, location of the lesions, length of convalescence period as well as age of the animal, genetic predispositions and the pressure which is put on the cartilage. Methods of supporting tissue regeneration are still subject of research. It's been said that smaller lesion is more likely to heal completely. It has also been proved that only full-thickness lesions can be fully repaired. These lesions reach subchondrial plate and it results in mesenchymal cells' flow to the injured site. Young animals tend to regenerate their cartilages faster and produce new tissue of better quality than older horses. Recently, cartilage injuries/degenerative lesions are often treated surgically during arthroscopy. It offers wide range of techniques: lavage, debridement, abrasion, drilling and microfractures. There are also new discoveries in regenerative human medicine as perosteal and perichondral scaffold implantation, autologic and allogenic cartilage implantation, autologous chondrocyte implantation, mesenchymal stem cells therapy and biomaterial scaffolds. In horses however these problems still need more studies.

Keywords: cartilage lesions, regeneration, treatment, horses.

i szpiku w celu uzyskania dobrej jakości tkanki w miejscu regeneracji; badania jakości chrząstki powstałej w miejscu łyżeczowania potwierdziły jej lepszą jakość w porównaniu z tą odnawianą, na bazie uszkodzonej tkanki chrzęstnej, czyniąc tę metodę podstawowym zabiegiem regeneracyjnym (1, 3, 15, 16);

5) **tworzenie mikrourazów**, czyli mikro-ubytków wielkości ok. 2–3 mm, aby zwiększyć krwawienie, a przez to wzmożone odżywianie chrząstki; stosuje się je zawsze w połączeniu z usunięciem martwej tkanki; bardzo ważne jest zastosowanie przy tym odpowiedniej rehabilitacji, ponieważ ruch sprzyja tworzeniu się nowych komórek chrzęstnych (1, 3, 13, 15, 16).

Techniki z punktów 4 i 5 są zaliczane do technik pobudzających szpik kostny, gdzie ubytek chrząstki jest eksponowany na komórki, które przedostają się do niego ze szpiku przez płytkę podchrzęstną (13). Uznaje się, że taka metoda daje efekty na 5 do 7 lat (14);

- 6) **przeszczepy skrawków okostnej lub chrzęstnej**, stosowane tylko do ubytków o całkowitej grubości chrząstki (7); udowodniono, że okostna ma zdolność do pobudzania chondrogenyzy w komórkach nieróznicowanych – w praktyce przeszczepia się autologiczny skrawek w miejsce ubytku z użyciem kleju fibrynowego (17); najczęściej używa się obecnie okostnej, ze względu na jej lepszą dostępność do transplantacji; podczas badań stwierdzono jednak, że za gojenie się chrząstki odpowiada przeszczep oraz komórki mezenchymalne pochodzące ze szpiku – tylko w 30% przypadków regeneracja przebiegała przy udziale wyłącznie przeszczepu; ważnym czynnikiem decydującym o powodzeniu terapii z użyciem przeszczepu okostnej jest wiek pacjenta (11);
- 7) **przeszczepy autologiczne i allogeniczne chrząstki**; metoda polega na wycięciu fragmentu chrząstki z powierzchni nieobciążanych i przeniesieniu ich w miejsce ubytku; znalazła ona zastosowanie głównie w leczeniu małych i średnich ubytków chrząstek, gdzie zanotowano zmniejszenie się bólu stawowego, jednak na razie przeprowadzono nieliczne badania dotyczące żywotności przeszczepionej chrząstki; stwierdzono jednak, że zdecydowanie lepiej przyjmuje się tkanka świeża niż mrożona (18); przeszczepy allogeniczne znalazły zastosowanie do większych ubytków, natomiast autologiczne – do mniejszych (7); wciąż jednak problemem jest odpowiedź immunologiczna organizmu na przeszczepianą tkankę (11);
- 8) **przeszczepy autologiczne chondrocytów** (autologous chondrocyte implantation – ACI); metoda weszła w życie w 1994 r. (19) i jej zasada opiera się na wycięciu fragmentu chrząstki z nieobciążanego regionu, po czym izolacji i kulturze otrzymanych chondrocytów – przed umieszczeniem ich w ubytku należy najpierw przyszyć w to miejsce fragment przeszczepionej okostnej i dopiero pod nią umieścić kulturę chondrocytów (7, 20); obecnie tę metodę stosuje się w połączeniu z polimerowymi rusztowaniami (21), natomiast wciąż jest ona przedmiotem badań, ponieważ dotychczasowe publikacje nie są zgodne co do faktycznej zdolności do regeneracji ubytków przez przeszczepione chondrocyty (11);
- 9) **terapia komórkami macierzystymi**, mezenchymalne komórki macierzyste mają zdolność do samoodnawiania się oraz naprawiania i regeneracji tkanki (21, 22), w której się znajdują wraz z możliwością przekształcenia się w dowolną tkankę; metoda polega na wyizolowaniu tych komórek ze szpiku oraz podanie w miejsce uszkodzenia wraz z czynnikami

wspomagającymi ich różnicowanie, np. czynnikiem wzrostu (7, 23); dotychczas jednak nie przebadano dokładnie, jakie warunki musi spełniać środowisko, w którym umieszcza się komórki macierzyste, aby różnicowały się one w pożądaną tkankę (3); udowodniono pozytywny wpływ tych komórek na wczesne etapy gojenia, natomiast nie miały one większego znaczenia przy długotrwałych rezultatach, zarówno w strukturze biochemicznej, jak i tkankowej uzupełnionego ubytku (25);

10) **rusztowania**, jedno z najnowszych odkryć w dziedzinie biomateriałów; są to biomateriały zaprojektowane w postaci trójwymiarowych fragmentów, mających służyć za swoisty szkielet dla przylegających i odbudowujących ubytek komórek; najpopularniejsze są zbudowane na bazie hialuronianu, jednak obecnie testuje się rozwiązania wykorzystujące pochodną chityny – chitozan, ze względu na jego biokompatybilność, wytrzymałość, właściwości antybakteryjne i biodegradowalność (7); metodę z zastosowaniem rusztowań można stosować łącznie z innymi metodami wymienionymi powyżej, np. ACI (21); najnowsze badania kliniczne nad polimerowymi rusztowaniami są bardzo obiecujące, wskazując na wysoki odsetek długotrwałego efektu regeneratywnego (11). Wiele technik jest już stosowanych z powodzeniem u ludzi (13, 20, 23), natomiast wciąż nie są jeszcze stosowane rutynowo u koni. Być może nowe badania w tym kierunku otworzą możliwości do pełnego wyleczenia znacznych ubytków w chrząstkach stawowych u tego gatunku. Ograniczeniem w przypadku medycyny koni są jednak nie tylko badania, ale także koszt i opłacalność.

Obecny rozwój techniki leczenia ubytków chrząstek boryka się z dwoma podstawowymi problemami: jak dokładnie wypełnić powstały ubytek oraz jak wymusić dobre związanie się podanego materiału z rodzimą tkanką (7). Mimo że początkowo udaje się pobudzić regenerację tkanki, to jednak okazuje się ona zbyt słaba w stosunku do pierwotnego stanu i nie dochodzi do wyzdrowienia.

Podsumowanie

Ubytki chrząstek są bardzo częstym i wciąż nierozwiązanym problemem u koni. Dotychczas nie określono metody leczenia, pozwalającej na całkowite ich wyleczenie. Regeneracja chrząstki zależy od wielu czynników, nie tylko bytowych i użytkowych, ale także genetycznych, jednak warto pamiętać, że dużą rolę w leczeniu odgrywa prawidłowa rekonwalescencja. Obecnie chirurgia dysponuje wieloma technikami wzmocnienia regeneracji chrząstki, od stosowanych rutynowo (płukanie, usuwanie martwej tkanki) do specjalistycznych, na razie przeprowadzanych

u ludzi (przeszczepy, terapia komórkami macierzystymi), które wciąż czekają na przebadanie pod kątem zastosowania w leczeniu zwierząt.

Piśmiennictwo

- Hurtig M.B., Fretz P.B., Doige C.E., Schnurr D.L.: Effects of lesion size and location on equine articular cartilage repair. *Can. J. Vet. Res.* 1988, **52**, 137-146.
- Salter R.B., Simonds D.F., Malcolm B.W., Rumble E.J., MacMichael D., Clements N.D.: The biological effect of continuous passive motion on the healing of full-thickness defects in articular cartilage. *J. Joint Bone Surg.* 1980, **62-A**, 1232-1251.
- Coletti J.M., Akeson W.H., Woo S.L.Y.: A comparison of the physical behavior of normal articular cartilage and the arthroplasty surface. *J. Bone Joint Surg.* 1972, **54-A**, 147-160.
- Dell'accio F., Vincent T.L.: Joint surface defects: clinical course and cellular response in spontaneous and experimental lesions. *Europ. Cells Mat.* 2010, **20**, 210-217.
- Redman S.N., Oldfield S.F., Archer C.W.: Current strategies for articular cartilage repair. *Eur. Cells Mat.* 2005, **9**, 23-32.
- Desjardins M.R., Hurtig M.B.: Cartilage healing: A review with emphasis on the equine model. *Can. Vet. J.* 1990, **31**, 565-572.
- Convery F.R., Akeson W.H., Keown G.H.: The repair of large osteochondral defects. An experimental study in horses. *Clin. Orthop. Rel. Res.* 1972, **82**, 253-262.
- Riddle W.E.: Healing of articular cartilage in the horse. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1970, **157**, 1471-1479.
- Kold S.E., Hickman J., Melson F.: An experimental study of the healing process of equine chondral and osteochondral defects. *Equine Vet. J.* 1986, **18**, 18-24.
- Mankin H.J.: The response of articular cartilage to mechanical injury. *J. Bone Joint Surg.* 1982, **64-A**, 460-466.
- Smith G.D., Knutsen G., Richardson J.B.: A clinical review of cartilage repair techniques. *J. Bone Joint Surg.* 2005, **87-B**, 445-449.
- Vachon A., Bramlage L.R., Gabel A.A., Weisbrode S.: Evaluation of the repair process of cartilage defects of the equine third carpal bone with and without subchondral bone perforation. *Am. J. Vet. Res.* 1986, **47**, 2637-2645.
- McIlwraith C.W., Fortier L.A., Frisbie D.D., Nixon A.J.: Equine models of articular cartilage repair. *Cartilage* 2011, **2**, 4317-4326.
- Barnewitz D., Endres M., Kruger I., Becker A., Zimmermann J., Wilke I., Ringe J., Sittlinger M., Kaps C.: Treatment of articular cartilage defects in horses with polymer-based cartilage tissue engineering grafts. *Biomaterials* 2006, **26**, 2882-2889.
- Carranza-Bencano A., Garcia-Paino L., Armas Padrón J.R., Cayuela Dominguez A.: Neochondrogenesis in repair of full-thickness articular cartilage defects using free autogenous periosteal grafts in the rabbit. A follow-up in six months. *Osteoarthritis Cartilage* 2000, **8**, 351-358.
- Tomford W.W., Springfield D.S., Mankin H.J.: Fresh and frozen articular cartilage allografts. *Orthopedics* 1992, **15**, 1183-1188.
- Brittberg M., Lindahl A., Nilsson A., Ohlsson C., Isaksson O., Peterson L.: Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation. *N. Engl. J. Med.* 1994, **331**, 889-895.
- Minas T.: Chondrocyte implantation in the repair of chondral lesions of the knee: economics and quality of life. *Am. J. Orthop.* 1998, **27**, 739-744.
- Minguell J.J., Ericas A., Conget P.: Mesenchymal stem cells. *Exp. Biol. Med.* 2001, **226**, 507-520.
- Roufosse C.A., Direkze N.C., Otto W.R., Wright N.A.: Circulating mesenchymal stem cells. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2004, **36**, 585-597.
- Pittenger M.F., Mackay A.M., Beck S.C., Jaiswal R.K., Douglas R., Mosca J.D., Moorman M.A., Simonetti D.W., Craig S., Marshak D.R.: Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999, **284**, 143-147.
- Mitchell N.S., Shepard N.: The resurfacing of adult rabbit articular cartilage by multiple perforations through the subchondral bone. *J. Bone Joint Surg.* 1976, **58-A**, 230-233.
- Hunziker E.B.: Articular cartilage repair: basic science and clinical progress: a review of the current status and prospects. *Osteoarthritis Cartilage* 2002, **10**, 432-63.
- Nixon A.J., Fortier L.A.: New horizons in articular cartilage repair. *AAEP Proceedings* 2001, **47**, 217-226.
- Wilke M. M., Nydam D. V., Nixon A. J.: Enhanced early chondrogenesis in articular defects following arthroscopic mesenchymal stem cell implantation in an equine model. *J. Orthop. Res.* 2007, **25**, 913-925.

Lek. wet. Olga Drewnowska,
e-mail: vet.olgadrewnowska@gmail.com