

Айрапетов Г.А.

## Метод замещения костно-хрящевых дефектов крупных суставов (отдаленные результаты экспериментальной работы)

ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г.Ставрополь

Airapetov G.A.

### Method of replacement osteochondral defects of the large joints (remote results of experimental research)

#### Резюме

**Актуальность:** Травмы и заболевания крупных суставов занимают лидирующее место в списке актуальных проблем ортопедии. В литературе регулярно предлагаются различные методы лечения такой патологии. Цель: Улучшить результаты лечения пациентов с повреждением гиалинового хряща. **Материалы и методы:** Проведено проспективное исследование на мелком рогатом скоте в количестве 30 особей, возраст животных составил от 1.5 до 3 лет, вес от 20 до 30 кг. Все животные были разделены на 3 группы в зависимости от метода замещения дефекта. **Оценку результатов** осуществляли при помощи оценочной шкалы. Так же выполнялась морфометрическое исследование регенерата с оценкой удельного объема хондроцитов, хрящевого матрикса, соединительной ткани и средней глубины дефекта. **Результаты:** Результат оценивали через 6 месяцев после операции. Лучшие результаты были получены в группе №3. Согласно проведенному анализу удельный объем хрящевого матрикса во всех группах статистически значимо выше чем в контрольной группе. Кроме того, объем хрящевого матрикса в 3 группе статистически значимо выше чем в 1 и 2 группах.

**Дискуссия:** в группе без замещения дефекта полученные данные сопоставимы с исследованиями других авторов, согласно которым костно-хрящевые дефекты практически не регенерируют самостоятельно. Предложенная нами методика с применением внеклеточного коллагенового матрикса, аутохряща и плазмы обогащенной тромбоцитами, является менее агрессивной в сравнении с аутохондропластикой, а образованный регенерат более стабильный по сравнению с микрофрактурированием или туннелизацией.

**Ключевые слова:** Костно-хрящевой дефект, хондропластика, внеклеточный коллагеновый матрикс

#### Summary

**Aim:** Injuries and diseases of large joints occupy a leading place in the list of urgent problems of orthopedics. Various methods of treatment of such pathology offered in the literature. **Objective:** to improve the results of treatment of patients with hyaline cartilage damage. **Materials and methods:** we conducted a prospective study on small cattle for individuals, the age of the animals ranged from 1.5 to 3 years, weight 20 to 30 kg. All the animals divided into 3 groups depending on the method of replacement of the defect. **The results evaluated** using an evaluation scale. Also performed morphometric study of the regenerate with the assessment of the specific volume of chondrocytes, cartilage matrix, connective tissue and the average depth of the defect. **Results:** evaluated 6 months after surgery. The best results were obtained in-group 3. According to the analysis, the specific volume of cartilage matrix in all groups is significantly higher than in the control group. In addition, the volume of cartilage matrix in-group 3 is significantly higher than in groups 1 and 2. **Discussion:** in the group without defect replacement, the data obtained are comparable with studies by other authors, according to which bone and cartilage defects practically do not regenerate on their own. Our proposed method with the use of extracellular collagen matrix, autochondroplasty and plate rich plasma is less aggressive in comparison with autochondroplasty, and regenerate more stable compared to microfracturing or tunnelization.

**Key words:** Bone and cartilage defect, chondroplasty, extracellular collagen matrix

#### Введение

Несомненно, одной из актуальных проблем ортопедии сегодня является максимально полноценное, физиологическое и минимально травматическое восстановление гиалинового хряща при повреждениях и

заболеваниях крупных суставов. По некоторым данным более 50% обращений к ортопеду, ревматологу, спортивному врачу и другим специалистам амбулаторного звена связаны с патологией суставов, дегенеративно – дистрофического характера [1,2]. При этом у 60% таких паци-

ентов определяется хондромалиция различной степени по глубине и протяженности [3]. Существуют различные методы диагностики и лечения указанной патологии. Основными задачами терапии можно назвать купирование болевого синдрома, снижение сроков и интенсивности прогрессирования заболевания, а также восстановление с полноценной медицинской, социальной и трудовой реабилитацией [4-6]. В последние годы весьма активно совершенствуются известные и разрабатываются новые технологии лечения хирургических методик остеоартрита, не исключая базового консервативного лечения [7-10].

В 60-х годах прошлого столетия одной из первых была предложена субхондральная или транскортикальная туннелизация [11]. К недостаткам туннелизации можно отнести возникновение ожога прилегающих тканей при некорректном использовании техники, что минимизирует кровотечение из субхондральной кости, а значит препятствует формированию полноценной и стабильной хрящеподобной фиброзной ткани из сгустка крови [12].

Аналогичным и достаточно распространенным методом лечения остеохондральных дефектов является микрофрактурирование склерозированной субхондральной кости, предложенный Steadman в 1997 году [13]. Несмотря на его преимущества, образующаяся в результате хрящеподобная фиброзная ткань тонка, неустойчива к физическим нагрузкам, довольно быстро лизируется и не соответствует ожиданиям функционального восстановления [13]. Ряд других малоинвазивных хирургических методик аналогичных указанным выше и сопоставимы по эффективности [13,14]

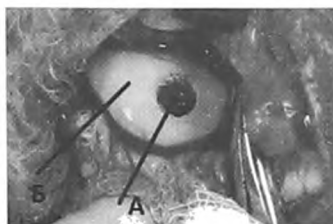
**Целью работы** является улучшить результаты лечения пациентов с костно-хрящевыми дефектами крупных суставов.

## Материалы и методы

Прспективное исследование проведено на 30 животных (60 коленных суставов) в возрасте от 1.3 до 2.5 лет. Выбор овец в качестве экспериментальных животных в отличии от мелких, таких как крысы, кролики, мыши, обусловлен схожестью анатомического строения и сопоставимы функциональным нагрузкам коленного сустава, что позволило провести исследование в тесной аналогии с коленным суставом человека. Овцы хорошо переносят анестезию, а также могут применяться в качестве экспериментальных животных на территории Российской Федерации (Закон "О защите животных от жестокого обращения", от 1.12.1999г., Ст. 9, пункт 4.)

В эксперименте животные разделены нами на 3 группы по 10 в каждой в зависимости от способа замещения остео-хондрального дефекта. Во всех наблюдениях формировали полнослойный дефект гиалинового хряща фрезой диаметром 4.5 мм и глубиной 5-7 мм с захватом субхондральной кости в области медиального мыщелка бедра. Левый сустав считали контрольным и сформированный по такой же методике дефект не восполняли.

В 1 группе животных непосредственно после формирования дефекта выполняли микрофрактурирование его дна. Во второй группе дефект замещали внеклеточ-



**Рис. 1** Полнослойный дефект гиалинового хряща и субхондральной кости внутреннего мыщелка бедра. А – сформированный дефект, Б – интактный хрящ



**Рис. 2** Вид полнослойного дефекта после заполнения его и фиксации внеклеточным коллагеновым матриксом. А – ВКМ, Б – фиксации при помощи швов

ным коллагеновым матриксом. В 3 группе внеклеточный коллагеновый матрикс подшивали к краям дефекта рассасывающейся хирургической нитью. Под матрикс вводили 3 мл плазмы, обогащенной тромбоцитами (PRP) со взвесью измельченного гиалинового аутохряща из ненагружаемой поверхности сустава. Фрагменты хряща измельчали до 1 мм и вводили под мембрану из расчета 5 штук на 1 см<sup>2</sup>.

В качестве общего анестетика использовали 1% Sol. Rometarii из расчета на 1 кг веса овцы.

Положение животного на боку. Выполняли стрижку шерсти в зоне вмешательства, после чего кожу обрабатывали р-ми антисептиков. Конечность фиксировали в положении сгибания. Хирургический доступ 4 см проводили по передней поверхности коленного сустава в проекции собственной связки надколенника. Далее рассекали подкожно – жировую клетчатку, капсулу сустава и обеспечивали доступ к медиальному мыщелку бедренной кости. Фрезой диаметром 4.5 мм рассверливали хрящ и субхондральную кость, оставляя её зияющей в контрольной группе (рис1.). Затем замещали сформированный дефект указанным выше способом в зависимости от экспериментальной группы животного (рис 2.). Операционную рану послойно ушивали без дренирования полости сустава.

Все животные содержались в условиях, соответствующих требованию законодательства РФ. Полную нагрузку на конечность не исключали сразу после операции.

Макроскопическую оценку полученных результатов оценивали при помощи шкалы, предложенной S. O' Driscoll et al. в 2002 году [14]. Следующим этапом выполняли морфометрию полученного регенерата с оценкой удельного объема хондроцитов, хрящевого матрикса, соединительной ткани и средней глубины дефекта.

Мониторинг результатов эксперимента проводили в сроки 1,3 и 6 месяцев после операции.

Для гистологического исследования материал фиксировали 10% нейтральным забуференным формалином, затем костную ткань декальцинировали в растворе 12% азотной кислоты, обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации с последующей заливкой в парафиновую среду "Histomix". Полученные парафиновые блоки резали на ротационном микротоме (LEICA RM 2125 RTS) и для оценки общепатологических изменений окрашивали срезы гематоксилином и эозином, а также пикрофуксином по Ван Гизону.

Наибольший клинический интерес имеют результаты через 6 месяцев после экспериментальной операции.

## Результаты и обсуждение

Падения животных от разных причин, как и инфекционно – гнойных осложнений мы не наблюдали.

В группе № 1, где выполнялось микрофрактурирование определяли «минус – ткань», макроскопически дно костно-хрящевого дефекта эрозировано, практически не заполнено рубцовой или хрящеподобной тканью, граница между зоной дефекта и интактным собственным гиалиновым хрящом прослеживается четко (Рис 3).

Микроскопический вид области костно-хрящевого дефекта в первой группе животных показан на рисунке 4. Как и макроскопически определяется эффект «минус

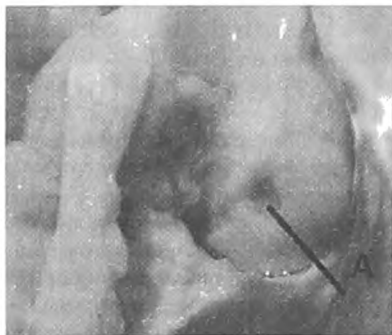


Рис. 3 Макроскопическая картина в группе № 1. А – сформированный регенерат.

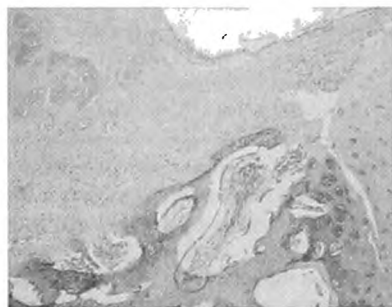


Рис 4. Фрагмент медиального мышечка бедренной кости овцы. Полнослойный дефект суставного гиалинового хряща и субхондральной костной пластинки, окраска гематоксилином-эозином, увеличение x 40.



Рис. 5 Макроскопическая картина в группе № 2. А – регенерат, Б – интактный хрящ.

– ткань», достигающий 50% толщины сформированного дефекта. Края дефекта ровные и гладкие, граница между новообразованной тканью и сохраненным гиалиновым суставным хрящом прослеживается четко, так как новообразованная ткань полнокровна.

Удельный объем хондроцитов в среднем составил 3.32%, удельный объем хрящевого матрикса 68%, удельный объем соединительной ткани 24,2%, а средняя глубина дефекта 63.1% от толщины нативного хряща.

Через 6 месяцев после операции в группе № 2, где выполнялось замещение дефекта внеклеточным коллагеновым матриксом так же определяли «минус – ткань», которая составляла 2/3 толщины дефекта. (рис 5)

Микроскопически в группе с замещением дефекта внеклеточным коллагеновым матриксом визуализировался более стабильный слой. Обнаруживаются признаки ремоделирования хрящевой ткани, выражающиеся в формировании хондроцитами колонок-столбиков, некоторое оживление поверхностного слоя (увеличение количества клеток), появление изогенных групп хрящевых клеток в матриксе (Рис 6).

Удельный объем хондроцитов в среднем составил 4.2%, удельный объем хрящевого матрикса 61,7%, удельный объем соединительной ткани 32,8%, а средняя глубина дефекта 59% от толщины нативного хряща.

Через 6 месяцев после операции в группе № 3 дефект практически полностью восстановлен, с ровными гладкими краями, граница между новообразованной тка-

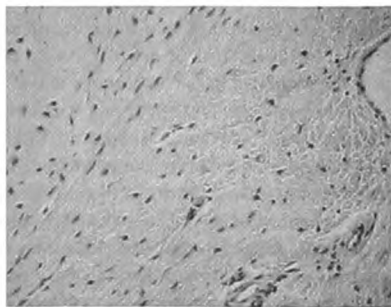


Рис. 6 Фрагмент медиального мышечка бедренной кости овцы. Полнослойный дефект суставного гиалинового хряща и субхондральной костной пластинки, окраска гематоксилином-эозином, увеличение x 200.



Рис. 7 Микроскопическая картина в группе № 3.  
А – регенерат.

нию и сохраненным гиалиновым суставным хрящом прослеживается с трудом.

На гистологических срезах видно, что на месте повреждения суставного гиалинового хряща образовался неоднородный слой гиалиноподобного хряща, практически сопоставимый с интактным хрящом.

Микроскопически область костно-хрящевой дефекта по краям выполнена гиалиновоподобной хрящевой тканью, которая местами разделялась на слои (поверхностный, промежуточный, глубокий). Субхондральная костная пластинка восстановлена на всем протяжении; волокна ее утолщены, оформленные, в большинстве своем расположены перпендикулярно, межучточное вещество в умеренном количестве, гомогенное.

Удельный объем хондроцитов в среднем составил 4,8%, удельный объем хрящевого матрикса 63,5%, удельный объем соединительной ткани 31,1%, а средняя глубина дефекта 79% от толщины нативного хряща.

Проверка гипотезы о соответствии результатов по шкале нормальному закону распределения выявила, что она не согласуется с нормальным законом распределения, т.к. наблюдаемое значение статистики  $\chi^2$  существенно выше критического, а  $p$ -уровень на несколько порядков ниже общепринятого уровня значимости 0,05 (табл. ниже).



Рис. 8 Фрагмент медиального мыщелка бедренной кости овцы. Полнослойный дефект суставного гиалинового хряща и субхондральной костной пластинки, окраска гематоксилином-эозином, увеличение  $\times 100$ .

Проверка гипотезы о соответствии результатов морфометрии нормальному закону распределения выявила, что показатель удельный объем хондроцитов не согласуется с нормальным законом распределения, т.к. наблюдаемое значение статистики  $\chi^2$  превосходит критическое, а  $p$ -уровень на порядок ниже общепринятого уровня значимости 0,05 (табл. ниже); удельный объем хрящевого матрикса и средняя глубина толщины дефекта согласуются с нормальным законом распределения, т.к. наблюдаемые значения статистики  $\chi^2$  превосходят критические, а  $p$ -уровень выше общепринятого уровня значимости 0,05 (таблица №1).

Согласно проведенному анализу удельный объем хрящевого матрикса во всех группах статистически значимо выше чем в контрольной группе. Кроме того, объем хрящевого матрикса в 3 группе статистически значимо выше чем в 1 и 2 группах.

Показатели удельного объема хрящевого матрикса, соединительной ткани и степени заполнения дефекта согласуются с нормальным законом распределения, поэтому для оценки статистической значимости различий значений данных показателей в разных группах применим дисперсионный анализ.

Средние значения данных морфометрии и баллов по шкале Driscoll приведены в таблице №2.

Большинство специалистов считают, что остео-хондральные дефекты требуют хирургического лечения [14]. Основным методом диагностики таких повреждений считается МРТ, благодаря чему имеется возможность полноценно подготовиться к операции. Одним из популярных методов лечения таких повреждений является микрофрактурирование. Это одна из наиболее простых и дешевых методик, которая выполняется артроскопически. По мнению многих авторов данная методика позволяет получить хорошие результаты в большинстве клинических случаев [15,16]. Однако, некоторые говорят о том, что полученный регенерат не позволяет полноценно заместить зону дефекта, а получаемый регенерат быстро лизируется, что и продемонстрировано нами в экспериментальной группе № 1 [17,18].

В предлагаемом нами решении проблемы восполнения остео-хондральных дефектов произведена попытка объединить преимущества таких монотерапевтических средств, как внеклеточный коллагеновый матрикс, PRP и аутопластики. Предложенный метод возможно выполнить во время одного вмешательства в отличие от методики ACI, а сама техника является менее агрессивной по сравнению с мозаичной аутохондропластикой, не оставляя больших дефектов в донорской зоне. Результаты, полученные в группе, где выполнялось микрофрактурирование дефекта показывают неполноценность сформированного сгустка и его ранний лизис. Наиболее оптимистичные результаты наблюдаются в группе № 3, где остео-хондральный дефект хорошо регенерировал и закрывался на 4/5, а морфологически удалось проследить архитектуру гиалиновоподобной хрящевой ткани, что, по нашему мнению, может свидетельствовать о хороших результатах.

## Заключение

Через 6 месяцев после применения предложенной нами методики можно говорить о хороших отдаленных результатах, несмотря на полноценную осевую нагрузку на конечность животным. Данная методика позволила добиться практически полного замещения дефекта и воссоздать участки регенерата с архитектурной свойственной нормальному гиалиновому хрящу, что подтверждено использованием оценочной шкалы и микроморфометрией. Следующим этапом планируется

апробация предложенного метода в клинической практике. ■

*Айрапетов Георгий Александрович, к.м.н., доцент кафедры травматологии и ортопедии Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, город Ставрополь, AirapetovGA@yandex.ru, тел. +79624466728*

## Литература:

1. Божоккин М.С., Божкова С.А., Нетьлько Г.И. Возможности современных клеточных технологий для восстановления поврежденного суставного хряща (аналитический обзор литературы). *Травматология и ортопедия России* 2016; 3: 122-134.
2. Белоусова Т. Е., Карпова Ж. Ю., Ковалева М. В. Современные технологии в медицине 2011; 2: 77-80.
3. Ежов М.Ю., Ежов И.Ю., Кашко А.К., Какимов А.Ю., Зыкин А.А. Нерешённые вопросы регенерации хрящевой и костной ткани (обзорно-аналитическая статья) *Успехи современного естествознания* 2015; 5: 126-131.
4. Чичасова Н. В. клиническое обоснование применения различных форм препарата терафлекс при остеоартрозе. *Современная Ревматология* 2010; 4: 59-64.
5. Andia I, Abate M. Knee osteoarthritis: hyaluronic acid, platelet-rich plasma or both in association? *Expert Opin Biol Ther* 2014; 14(5): 635-649
6. Chang K.V., Hung C.Y., Aliwarga F., Wang T.G., Han D.S., Chen W.S. Comparative effectiveness of platelet-rich plasma injections for treating knee joint cartilage degenerative pathology: a systematic review and meta-analysis. *Arch Phys Med Rehabil* 2014; 95(3): 562-575.
7. AadDhollAnder, Kris Moen S., Jaap Van der Maas, Peter Verdon K., Karl Fredrik Almqvist, Jan Victor Treatment of Patellofemoral Cartilage Defects in the Knee by Autologous Matrix-Induced Chondrogenesis (AMIC). *ActaOrthop. Belg.* 2014; 80: 251-259.
8. Тепляшин А.С., Шарифуллина С.З., Чушкова Н.И., Сенишвили Р.И. Перспективы использования мультипотентных мезенхимных стромальных клеток костного мозга и жировой ткани в регуляции регенерации опорных тканей. *Аллергология и иммунология* 2015; 16 (1): 138-148.
9. Козадаев М.Н. Применение матриц на основе поликапролактона для стимуляции регенерации суставного хряща в условиях эксперимента. *Теоретические и прикладные аспекты современной науки* 2014; 3(2): 128-130.
10. Svend Ulstein • Asbjørn A `røen • Jan HaraldRøtterud. Microfracture technique versus osteochondral autologous transplantation mosaicplasty in patients with articular chondral lesions of the knee: a prospective randomized trial with long-term follow-up. *Knee Surg Sports TraumatolArthrosc* 2014; 4: 210-216.
11. Pridie K. A method of resurfacing osteoarthritic knee joints. *J Bone Joint Surg Am* 1959; 41: 618-619.
12. Ewers B.J., Dvoracek-Driksna D., Orth M.W., Haur R.C. The extent of matrix damage and chondrocyte death in mechanically traumatized articular cartilage explants depends on rate of loading // *J. Orthop. Res.* 2001; 19: 779-784.
13. Шевцов В.И., Макушин В.Д., Ступина Т.А., Степанов М.А. Экспериментальные аспекты изучения репаративной регенерации суставного хряща в условиях туннелирования субхондральной зоны с введением аутологичного костного мозга. *Гений ортопедии* 2010; 2: 5-10.
14. Советников Н.Н., Кальсин В.А., Конопляников М.А., Муханов В.В. Клеточные технологии и тканевая инженерия в лечении дефектов суставной поверхности // *Клиническая практика* 2013; 1: 52-66
15. Steadman J.R., Briggs K.K., Rodrigo J.J., Kocher M.S., Gill T.J., Rodkey W.G. Outcomes of microfracture for traumatic chondral defects of the knee: average 11-year follow-up. *Arthroscopy*. 2003 T. 19, P. 477-484.
16. Kreuz P.C., Erggelet C., Steinwachs M.R., Krause S.J., Lahm A., Niemeyer P., Ghanem N., Uhl M., Su dkamp N. Is microfracture of chondral defects in the knee associated with different results in patients aged 40 years or younger? *Arthroscopy* 2006; 22: 1180-1186.
17. Svend Ulstein • Asbjørn A `røen • Jan HaraldRøtterud • SverreLøken • Lars Engebretsen • Stig Heir. Microfracture technique versus osteochondral autologous transplantation mosaicplasty in patients with articular chondral lesions of the knee: a prospective randomized trial with long-term follow-up. *Knee Surg Sports TraumatolArthrosc* 2014; 3: 38-42.
18. Knutsen G., Engebretsen L., Ludvigsen T.C., Drogset J.O., Grøntvedt T., Solheim E., Strand T., Roberts S., Isaksen V., Johansen O. Autologous chondrocyte implantation compared with microfracture in the knee: a randomized trial. *J Bone Joint Surg Am* 2004; 86: 455-464.