

УДК 616.72-018.3-007.233-089

DOI: 10.15587/2313-8416.2015.47903

## ХІРУРГІЧНІ МЕТОДИКИ МЕЗЕНХІМАЛЬНОЇ СТИМУЛЯЦІЇ РЕПАРАТИВНОГО ХОНДРОГЕНЕЗУ ГІАЛІНОВОГО ХРЯЩА

© А. В. Літовченко

*Мета експериментального дослідження - вивчення перебігу репаративного хондрогенезу на тлі хондромалії при використанні двох остеоперфоративних методик. Найбільша кількість клітинних попередників хондрогенезу локалізовано на межі ендоста і кістково-мозкової порожнини. Доступ стовбурових клітин мезенхімального походження до пошкодженого хряща забезпечується процедурою тунелізації кістково-мозкової порожнини. Обґрунтована артроскопічна техніка лікування хворих з хондромалією суглобового хряща*

**Ключові слова:** колінний суглоб, хондромалія, суглавійний хрящ, хірургічне лікування, експериментальна хондромалія, мікрофрактуризація

*The main direction of surgical treatment of cartilage injuries are the surgeries that create conditions for chondrogenesis stimulation by the method of perforation of subchondral bone plate – osteoperforative methods. The modern osteoperforative method is a microfracturization of the fundus of cartilage defect.*

**The aim.** of experimental research was the study of features of clinical course of reparative chondrogenesis on the background of chondromalacia using two osteoperforative methods.

**Methods.** Experimental researches were carried out on 45 sexually mature male rats that underwent modeling of knee joint chondromalacia. There were carried out histological examinations of cartilaginous tissue of the joint. For study of the source of oligopotent cells of mesenchymal nature immunohistochemical research was carried out.

**Results.** The most significant advantages of joint cartilage regeneration were observed at tunnelization to the medullary cavity. The most cells-precursors of chondroblasts were localized on the border of endosteum and medullary cavity. An access of stem cells of mesenchymal nature to an injured cartilage can be ensured by tunnelization to the medullary cavity.

**Conclusions.** Subchondral tunnelization of the defect area in conditions of chondromalacia is less effective than tunnelization of medullary cavity. Arthroscopic surgical technology of the treatment of patients with chondromalacia of articular cartilage was grounded

**Keywords:** knee joint, chondromalacia, articular cartilage, surgical treatment, experimental chondromalacia, microfracturization

### 1. Вступ

Одну з груп хірургічних втручань при пошкодженні хряща складають операції, спрямовані на утворення умов для стимуляції хондрогенезу шляхом перфорації субхондральної кісткової пластинки так звані остеоперфоративні методики. Започаткування цієї методики мало на меті напівемпіричне обґрунтування класичного процесу загоєння рани шляхом її ревазуляризації. Вперше техніку субхондральної тунелізації запропонував та описав К. Н. Pridie у 1959 році, яка полягала в просвердлюванні склерозованої субхондральної кістки до появи вираженої кровотечі із спонгіозної кісткової тканини, що в кінцевому результаті призводило до утворення волокнистого хряща, який відновлював в зоні дефекту суглобову поверхню [1]. Дана методика з невеликими модифікаціями використовується і в умовах сучасності [2].

### 2. Обґрунтування дослідження

На сьогодні з'явилося багато теоретичних, експериментальних і клінічних досліджень, що вказують на позитивні ефекти формування на перфорованій кістковій пластині фібринного згустку з вмістом ме-

зенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку та факторів росту. Під впливом біологічних та механічних факторів синовіального середовища плюрипотентні стовбурові клітини здатні трансформуватися в хондродні та продукувати волокнисто-хрящову тканину [3, 4]. Хоча ця тканина відрізняється від гіалінового хряща перш за все за вмістом колагену I типу та концентрацією протеогліканів. Проте, підхрящова тунелізація зони дефекту є технічно простою має низький кошторис та малу частку ускладнень.

До остеоперфоративних методик відносять і абразивну хондропластику. Таку операцію запропонував та обґрунтував Р. В. Magnuson в 1942 році. Втручання полягало в економній резекції країв дефекту хряща та резекції підхрящової кісткової пластинки на глибину 1–3 мм [5]. Проте, після абразивної хондропластики деякі автори відмічають неповноцінне відновлення дефекту хондродною тканиною, гістологічні ознаки дегенерації хряща та збільшення площі останнього [6].

Сучасною остеоперфоративною методикою є мікрофрактуризація дна хрящового дефекту [7]. Мікропереломи підхрящової кісткової пластинки

спричиняють вихід на суглобову поверхню у зоні дефекту суміші крові та кісткового мозку, що призводить до формування фібринного згустку, збагаченого плюрипотентними стовбуровими клітинами, що в подальшому і обумовлює утворення волокнистого хряща [8, 9]. Перевагами такої хірургічної технології є лише виключення некрозу тканин від опіку при свердлінні.

На цій основі провідними фахівцями світу підтримується думка про перспективність і пріоритетність досліджень в області вивчення результативності остеоперфоративних методик лікування пошкоджень хряща, розробки нових способів стимуляції хондрогенезу [10, 11].

На нашу думку, перебіг репаративного хондрогенезу прямо залежить від кількісної міграції стовбурових стромальних клітин кісткового мозку мезенхімального походження в зону дефекту.

### 3. Мета дослідження

Виходячи із сучасного стану проблеми метою роботи стало – експериментально-теоретично обґрунтування оптимальної остеоперфоративної хірургічної методики лікування дефектів гіалінового хряща.

В дослідженні поставлені наступні завдання:

1. Оцінка ефективності підхрящової тунелізації зони дефекту в умовах хондромаліції в порівнянні з тунелізацією кістковомозкової порожнини.

2. Вибір хірургічної процедури для забезпечення оптимальної кількості стовбурових клітин попередників хондробластів.

3. Експериментальне обґрунтування методики артроскопічної тунелізації кістковомозкової порожнини.

### 4. Матеріали і методи

Для вивчення особливостей перебігу репаративного хондрогенезу в умовах хондромаліції суглобового хряща були проведені експериментальні дослідження на 45 статевозрілих щурах самцях, вагою 180–200 грамів. Тварини розбиті на 3 серії. Піддослідних тварин виводили з експерименту на 7, 14, 21 добу.

1 – серія (контрольна) формування дегенеративної хондромаліції (дірчастий дефект наносили в області виростку стегнової кістки бором 2 мм до субхондральної кістки, моделювали анатомо-функціональну невідповідність в суглобі шляхом перетинання колатеральної зв'язки). Для наступних серій експерименту тварин залучали з 28-ї доби.

2 – серія після моделювання хондромаліції, шпинею до 0,5 мм здійснювали розсвердлювання в області дефекту субхондральної кістки.

3 – серія після моделювання хондромаліції виконували тунелізацію кістковомозкової порожнини.

Догляд та утримання тварин здійснювали відповідно Страсбурзькій конвенції та положенню «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», прийнятих Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Після виведення тварин з досліду колінний суглоб виймали, очищали від м'яких тканин, декальцинували в розчині трихлороцтової кислоти, проводили через спирти збільшеної концентрації, заливали в парафін. Зрізи завтовшки 5–6 мкм фарбували гематоксиліном-еозинном, пікрофуксином за Ван Гізеном, галоціанін-хромовими квасцями за Ейнарсоном на сумарні нуклеїнові кислоти. Для дослідження ймовірного кістковомозкового джерела молодих, камбіальних клітин виконано імуногістохімічне дослідження з використанням антитіл Ki-67 (Dako) і овідин-біотинової візуалізації. Антиген Ki-67, як відомо, присутній в кожній клітині, що ділиться.

### 5. Результати дослідження

Через 7 днів після моделювання хондромаліції у тварин 1-серії спостерігається пошкодження цілісності суглобової поверхні тяжкого ступеню нерідко до субхондральної кісткової пластинки. Спостерігається відкладання в цих ділянках гомогенних еозинофільних депозитів (рис. 1). В порожнині суглоба відмічено наявність еозинофільних грудочкових мас. В цій ділянці, вочевидь, швидко руйнувались і камбіальні хрящові клітини – хондробласти. При аналізі виразність Ki-67-позитивності на периферії хряща вдавалось відмітити деяку кількість хондробластів, що діляться під збереженими ділянками зовнішньої зони. На 14-у добу хрящ на периферії від дефекту також має активні хондробласти, але лише в потовщеній поверхневій зоні та має ознаки прискороеного скостеніння внутрішнього шару хряща (рис. 2).

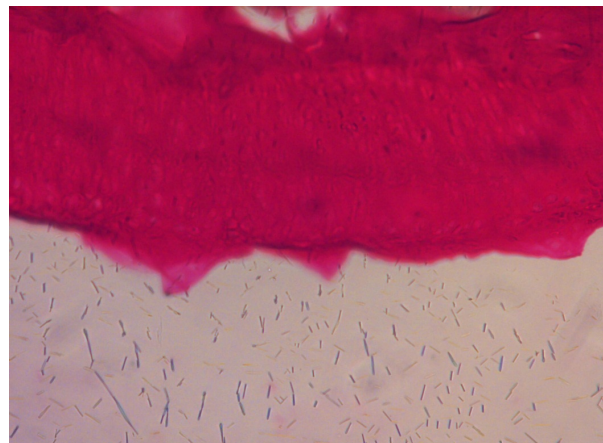


Рис. 1. Формування дегенеративної хондромаліції на сьому добу. 1-а серія експерименту. Зб. 400

Звертає увагу те, що під кістковою пластинкою суглобового хряща колінного суглоба щура кістковий мозок має ознаки активації проліферативного процесу, оскільки, мічені клітини розташовані великими групами (рис. 3).

Проте, хрящова тканина місцями заміщена сполучною тканиною. Серед наявних хондроцитів видно молоді і загиблі клітини. В контрольній групі переважають процеси хондромаліції, і мітогичний потенціал хондробластів місцями повністю вичерпаний.

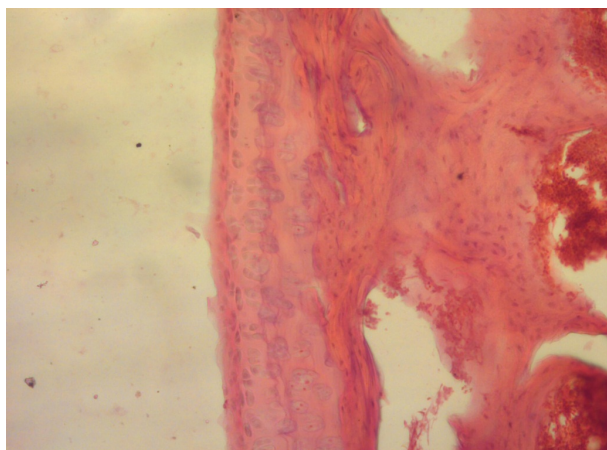


Рис. 2. 1-а серія 14-а доба експерименту. Скостеніння внутрішнього шару хряща. Зб. 400

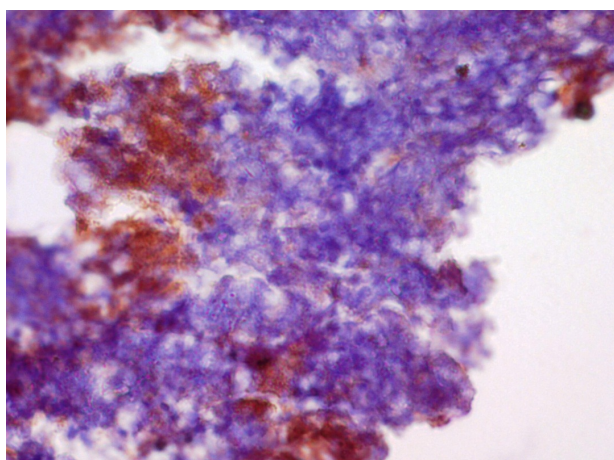


Рис. 3. Незначна активація проліферативного процесу в кістковому мозку епіфіза стегнової кістки на 14 добу експерименту – 1-а серія. Наявність груп Кі-67-позитивних клітин. Імуногістохімічна реакція на антиген Кі-67. Зб.400

В останній строк спостереження, тобто на 21-й день, в 1-й серії спостерігається картина прогресування хондромаліції з деструкцією хряща, та формуванням глибоких щілин. Регенераторний процес продовжується але, очевидно, потенціал клітинної проліферації лімітований, виходячи із можливостей не тільки хондробластів зовнішньої зони, а й стовбурових клітин червоного кісткового мозку, що отримав контакт з хрящем внаслідок утворення тріщини хряща (рис. 4).

У тварин 2-ї серії через 7 діб субхондральна кісткова пластинка вкрита тонким шаром молодого хряща з хондробластами, розташованими горизонтально, тобто паралельно поверхні хряща (рис. 5). Глибокий шар хрящової пластинки виявився кальцифікований і, що цікаво, в скостенілого хряща та близько до нього зустрічаються загиблі і живі мічені клітини, походження яких можливо тільки з прилягаючого кісткового мозку (рис. 6).

На 14-й день спостереження в 2-й серії експерименту відмічено місцями повне заміщення хряща

сполучною тканиною (рис. 7). На демонстраційній фотографії сполучно-тканинне покриття суглобової поверхні прямо контактує з червоним кістковим мозком. Крім того, необхідно відмітити тяжи з хондроцитів, що спрямовані від метаепіфізарної хрящової пластинки до суглобового хряща. В ділянках збереженого хряща відмічається його загальне потоншення в порівнянні з інтактним хрящем, місцями відсутність волокнистого шару і зменшення кількості хондробластів в зовнішній зоні.

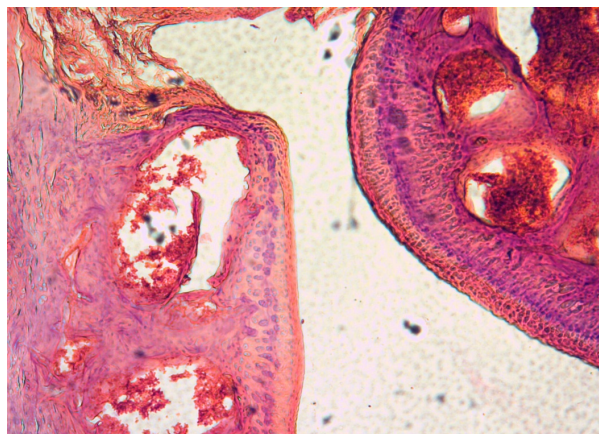


Рис. 4. Формування хондромаліції на 21день спостереження 1-а серія. Деструкція хряща. Зб. 400

Кі-67-позитивні клітини в хрящовій тканині суглоба майже відсутні, суглобова поверхня нерівна, пухка, ядра багатьох збережених хондроцитів мають ознаки маргинації хроматину та хроматолізісу.

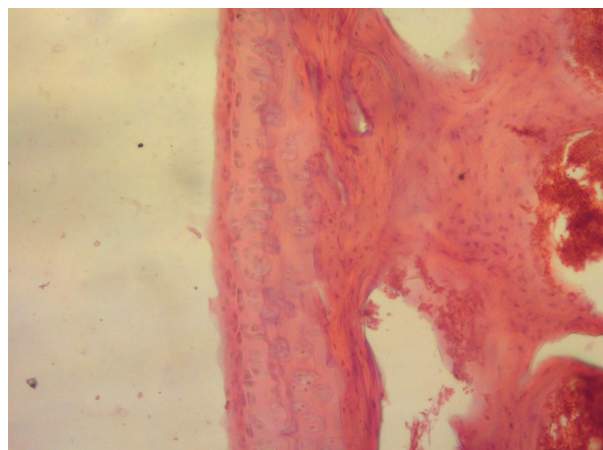


Рис. 5. Хондробласти розташовані паралельно поверхні хряща. 7-а доба експерименту у тварин 2-ї серії. Зб. 400

Можна стверджувати, що регенераторний потенціал хрящової пластинки у тварин 2-ї серії в термін 14 діб спостереження повністю вичерпаній (рис. 8). Була відмічена невелика участь кістково-мозкових стовбурових клітин в регенерації суглобової хрящової пластинки.

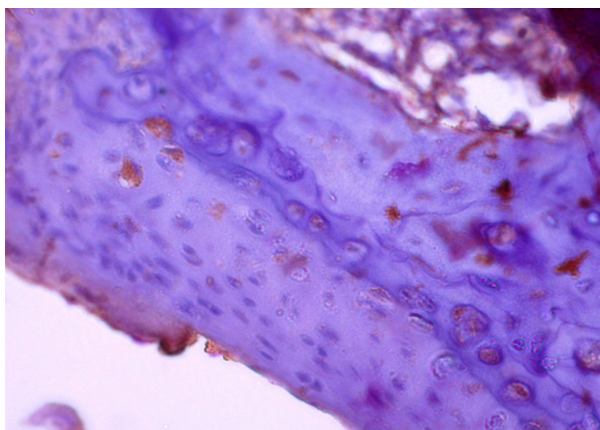


Рис. 6. Невелика кількість Ki-67-мічених клітин в глибокому шарі хряща у тварин 2-ї серії на 7 добу експерименту. Імуногістохімічна реакція на антиген Ki-67. Зб. 400

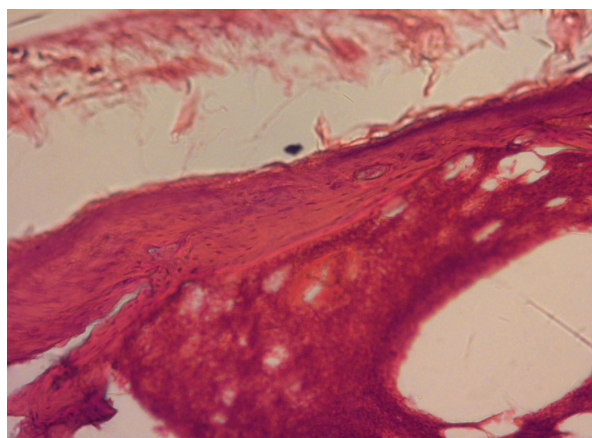


Рис. 7. 2-а серія експерименту, 14-й день спостереження. Зб. 400

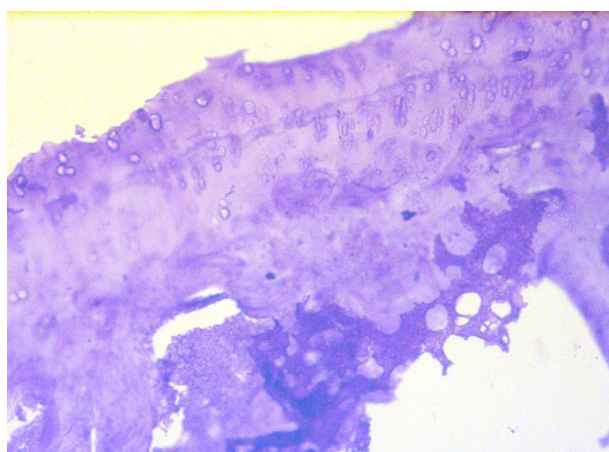


Рис. 8. Відсутні групи Ki-67-позитивних клітин в хрящовій пластині у тварин 2-ї серії на 14 добу експерименту. Імуногістохімічна реакція на антиген Ki-67. Зб.400

На 21-у добу спостереження зберігаються ділянки хряща, в якій поодинокі хондроцити поступово зникають, і кістка в цьому місці покрита тонким шаром гіаліноподібним матриксом.

В 3-й серії досліді на 7 добу безпосередньо в ділянці проходу зонду сформувалась тонка пластинка мілких клітин з високим вмістом сумарних нуклеїнових кислот. По периферії від цієї ділянки також наявні в великій кількості аналогічні клітини, очевидно, ті, що швидко діляться. Останні локалізовані в нижньому шарі хряща знаходяться безпосередньо в контакті зі спустошеною лакуною червоного кісткового мозку. Нерідко в ділянках, розташованих на значному віддаленні від осередку пошкодження, також відмічається наростання потовщення хряща з внутрішньої зони, тобто за рахунок диференціювання стовбурових клітин кісткового мозку (рис. 9).

Кістковий мозок в епіфізарній камері інтенсивно Ki-67-позитивний (рис. 10).



Рис. 9. 7-а доба експерименту у тварин 3-ї серії. Зб. 400

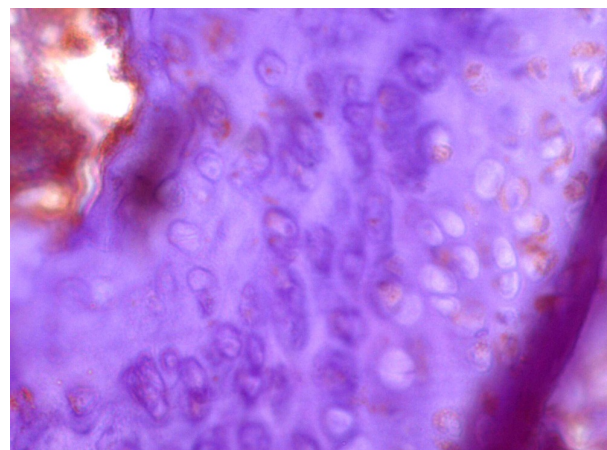


Рис. 10. Хрящова пластинка тварини 3-ї серії на 7 добу експерименту. Ki-67-мічені клітини глибокому шарі хряща, що вказує на участь кістково-мозкових стовбурових клітин в регенераторному процесі. Імуногістохімічна реакція на антиген Ki-67. Зб. 400

В 3-й серії на 14 день спостереження має місце значне збільшення кількості хондроцитів в досить товстому шарі суглобового хряща. Проте, морфофункціональний стан хряща може бути різним: це повна ре-

генерація з формуванням гладкої поверхні та на фоні регенерації хрящової тканини і деструкція хряща, причиною чого, ймовірно, є змодельована анатомо-функціональна невідповідність суглобових поверхонь. Ствобурові клітини, що мігрують з кісткового мозку в товщу хряща, добре видно при фарбуванні мікропрепаратів галлоціанін-хромовими квасцями за Ейнарсоном: останні мають невеликі розміри, витягнуту форму, великий вміст нуклеїнових кислот (рис. 11).

Ki-67-позитивні хондробласти в великій кількості присутні в глибоких шарах хряща, що контактують з кістковим мозком (рис. 12). Лакуни кісткового мозку напроти ділянки хряща, де наявні мігруючі ствобурові клітини, спустошені. Крім того, стимуляція проліферації хондробластів проявляється і в метаепіфізарній хрящовій пластині з формуванням тяжа спрямованого до суглобової поверхні.

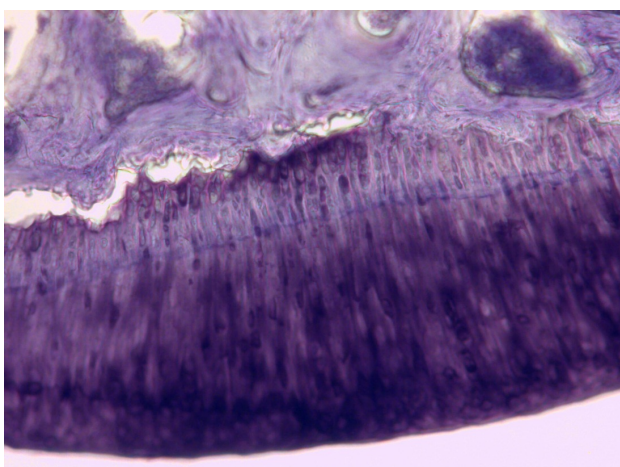


Рис. 11. 3-я серія експерименту, 14-й день спостереження. 36. 400

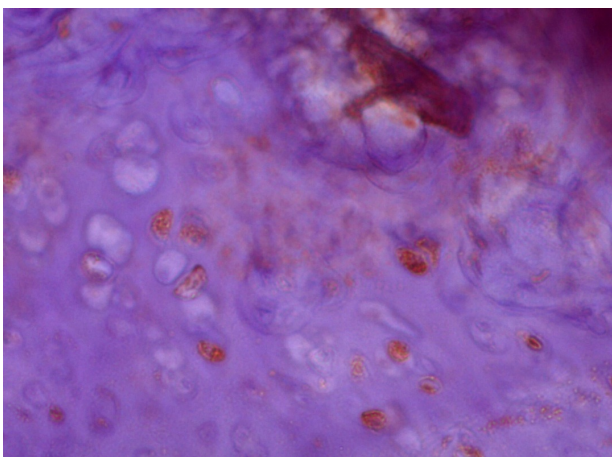


Рис. 12. Багаточисельні Ki-67-мічені клітини в глибокому шарі хрящової пластинки на 14 добу експерименту 3-я серія. Імуногістохімічна реакція на антиген Ki-67. 36.400

На 21-у добу дослідження і в товщі хрящової пластинки мічених клітин спостерігається досить багато (рис. 13). Отже, в ділянках, що розташовані біля «тунелю» де вірогідна міграція ствобурових клітин

в пошкодженій хрящ відбувається хондрорепація. Морфофункціональний стан хрящової тканини піддослідних тварин 3-ї серії на 21 добу спостереження має попередню спрямованість.

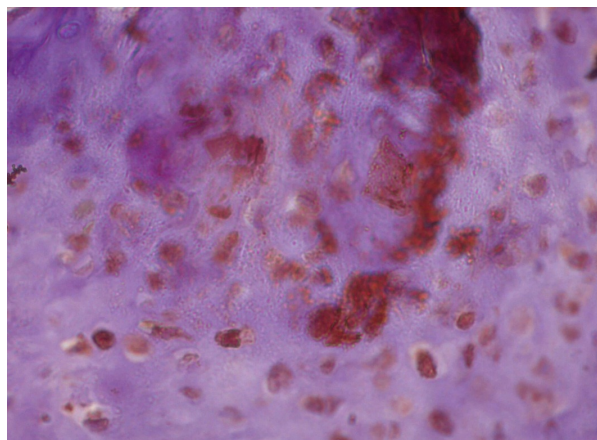


Рис. 13. Значна кількість Ki-67-мічених клітин в глибокому шарі хрящової пластинки навколо «тунелю» на 21 добу експерименту. Імуногістохімічна реакція на антиген Ki-67. 36.400

## 6. Обговорення результатів

Узагальнюючи результати експерименту, можливо стверджувати, що найбільш виразні переваги регенерації суглобового хряща відбуваються шляхом проведення тунелізації саме до кістково-мозкової порожнини. Інтенсивні прояви яких вже візуальні на 14-й день спостереження. Вірогідно, що жовтий кістковий мозок за необхідності перетворюється в червоний кістковий мозок, тобто останній має свої запаси ствобурових клітин. Хоча, можливо, найбільша кількість клітин-попередників хондробластів локалізована саме на межі ендосту та кістково-мозкової порожнини. Проте, в усякому разі доступ ствобурових клітин мезенхімального походження до пошкодженого хряща доцільно забезпечити процедурою тунелізації до кістково-мозкової порожнини.

## 7. Висновки

1. Підхрящова тунелізація зони дефекту в умовах хондромалізації є менш ефективною в порівнянні з тунелізацією кістково-мозкової порожнини. Глибока тунелізація кістково-мозкової порожнини призводить до інтенсифікації репаративних процесів в хрящовій тканині.

2. Оптимальна кількість ствобурових клітин попередників хондробластів забезпечується хірургічною процедурою тунелізації кістково-мозкової порожнини. Така методика сприяє механічному доступу ствобурових клітин мезенхімального походження до пошкодженого хряща.

3. Використання методики артроскопічної тунелізації кістково-мозкової порожнини є експериментально-теоретично обґрунтованим. Жовтий кістковий мозок має свої джерела олігопотентних ствобурових клітин, значна кількість яких сконцентрована на межі ендосту та кістково-мозкової порожнини.

**Література**

1. Pridie, K. H. A method of resurfacing knee joints [Text] / K. H. Pridie // J Bone Joint Surg Br. – 1959. – Vol. 41. – P. 618–619.
2. Urguden, M. Treatment with Abrasion Arthroplasty or Drilling of Chondral Lesions in Femoro-Tibial Joint “Mod-Term Results” [Text] / M. Urguden, H. Ozdemir, A. M. Ozenci et al. / Arthroplasty Arthroscopic Surgery. – 2003. – Vol. 14, Issue 1. – P. 7–12.
3. Зазірний, І. М. Хірургічне лікування дефектів хряща колінного суглоба [Текст] / І. М. Зазірний, В. Г. Євсєєнко. – Київ: Здоров'я, 2010. – 176 с.
4. Куляба, Т. А. Хондромалация и другие повреждения хряща коленного сустава. Клинический протокол [Текст] / Т. А. Куляба, Н. Н. Корнилов. – С.-Петербург: СПб «Политехника», 2013. – 26 с.
5. Magnusson, P. B. Technique of debridement of the knee joint for arthritis [Text] / P. B. Magnusson // Surg Clin North Am. – 1946. – Vol. 26. – P. 226–249.
6. Solheim, E. Symptoms and function in patients with articular cartilage lesions in 1,000 knee arthroscopies [Text] / E. Solheim, A. M. Krokeide, P. Melteig, A. Larsen, T. Strand, M. Brittberg // Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy. – 2014. – Vol. 36, Issue 12. – P. 89–94. doi: 10.1007/s00167-014-3472-9
7. Steadman, J. R. The microfracture technique in the treatment of full-thickness chondral lesions of the knee in National Football League players [Text] / J. R. Steadman, W. G. Rodkey, J. J. Rodrigo // Clin Orthop. Relat. Res. – 2001. – Vol. 319. – P. 362–369.
8. Михаэль, Ш. Руководство по артроскопической хирургии: в 2 томах. Т. 1 [Текст] / Ш. Михаэль; пер. с англ.; под ред. А. В. Королева. – М.: Издательство Панфилова; Бинном. Лаборатория знаний, 2012. – 672 с.
9. Корж, Н. А. Повреждение хряща коленного сустава [Текст] / Н. А. Корж, М. Л. Головаха, В. Орлянский. – Запорожье «Просвіта», 2013. – 126 с.
10. Эйсмонт, О. Л. Современные возможности и перспективы хирургического лечения повреждений и заболеваний суставного хряща [Текст] / О. Л. Эйсмонт, П. Г. Скакун, А. В. Борисов, В. А. Букач и др. // Медицинские новости. – 2008. – № 7. – С. 12–19.
11. Хубутя, М. Ш. Стимуляция регенерации гиалинового хряща при костно-хрящевой травме в эксперименте [Текст] / М. Ш. Хубутя, И. Ю. Ключкин, Л. П. Истранов, В. Б. Хватов и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2008. – № 11. – С. 597–600.

**References**

1. Pridie, K. H. (1959). A method of resurfacing knee joints. J Bone Joint Surg Br., 41, 618–619.
2. Urguden, M., Ozdemir, H., Ozenci, A. M. et al. (2003). Treatment with Abrasion Arthroplasty or Drilling of Chondral Lesions in Femoro-Tibial Joint “Mod-Term Results”. Arthroplasty Arthroscopic Surgery, 14 (1), 7–12.
3. Zazirniy, I. M., Evseenko, V. G. (2010). Khirurgichne likuvannya defektiv khriascha kolinnogo sugloba [Surgical treatment of defects knee joints]. Kyiv: Zdorovia, 176.
4. Kuliaba, T. A., Kornilov, N. N. (2013). Khondromalacia i drugie povrezhdeniya khriascha kolennogo sustava. Klinicheskiy protokol. [Chondromalacia and other damage to the cartilage of the knee joint. Clinical Protocol]. S.-Petersburg: SPB«Polytechnika», 26.
5. Magnusson, P. B. (1946). Technique of debridement of the knee joint for arthritis. Surg Clin North Am, 26, 226–249.
6. Solheim, E., Krokeide, A. M., Melteig, P., Larsen, A., Strand, T., Brittberg, M. (2014). Symptoms and function in patients with articular cartilage lesions in 1,000 knee arthroscopies. Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy, 36 (12), 89–94. doi: 10.1007/s00167-014-3472-9
7. Steadman, J. R., Rodkey, W. G., Rodrigo, J. J. (2001). The microfracture technique in the treatment of full-thickness chondral lesions of the knee in National Football League players. Clin Orthop Relat Res., 319, 362–369.
8. Michael, S. (2012). Rukovodstvo po Artroskopicheskoy Khirurgii: v 2 tomah (translated from English). Vol. 1 [Manual of Arthroscopic Surgery]. Moscow: Izdatelstvo Panfilova, Binom: Laboratoriya Znaniy, 672.
9. Korzh, N. A., Golovaha, M. L., Orlianskiy, V. (2013). Povrezhdenie Khriascha Kolennogo Sustava [Damage of Cartilage of Knee Joints]. Zaporozhie “Prosvita”, 126.
10. Eismont, O. L., Skakun, P. G., Borisov, A. V., Bukach, V. A. et al. (2008). Sovremennyye vozmozhnosti i perspektivy khirurgicheskogo lecheniya povrazhdeniy i zabolevaniy sustavnogo khriascha [Modern opportunities and prospects of surgical treatment of injuries and diseases of articular cartilage]. Medicinskie Novosti, 7, 12–19.
11. Khubutia, M. Sh., Kliykvin, I. Y., Istranov, L. P., Khvatov, V. B. et al. (2008). Stimuliatsiya regeneratsii gialinovogo khriascha pri kostno-khriaschevoi travme v eksperimente [Stimulation of regeneration of hyaline cartilage in bone and cartilage injury in the experiment]. Bulletin of Experimental Biology and Medicine, 11, 597–600.

*Рекомендовано до публікації: д-р мед. наук, професор Литовченко В. О.  
Дата надходження рукопису 10.06.2015*

**Літовченко Андрій Вікторович**, аспірант, кафедра екстреної та невідкладної медичної допомоги, ортопедії та травматології, Харківський національний медичний університет, пр. Леніна, 4, м. Харків, Україна, 61022  
E-mail: litovchenko2002@mail.ru