

© Коллектив авторов, 2014

## АРТРОПЛАСТИКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АУТОЛОГИЧНЫХ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ КЛЕТОК И КОЛЛАГЕНОВОЙ МЕМБРАНЫ CHONDRO-GIDE

А.И. Брянская, Т.А. Куляба, Н.Н. Корнилов, В.П. Румакин, В.С. Горностаев

ФГБУ «Научно-исследовательский детский ортопедический институт им. Г.И. Турнера»,  
ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена»  
Минздрава России, ООО «БиолоТ», Санкт-Петербург, РФ

*Представлены результаты оперативного лечения 13 пациентов с локальными глубокими дефектами суставной поверхности мыщелков бедренной кости. Оперативное лечение выполняли в два этапа. Первым этапом проводили диагностическую артроскопию, в ходе которой удаляли свободные внутрисуставные тела, резецировали поврежденные мениски, осуществляли забор ткани жирового тела, из которой выделяли мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК). Вторым этапом выполняли артропластику коленного сустава; зону дефекта укрывали мембраной Chondro-Gide, под которую имплантировали ММСК. Четверем (30,8%) пациентам через 2 года после артропластики коленного сустава выполнена контрольная артроскопия с биопсией фрагмента суставной поверхности в области восстановления дефекта. Установлено, что регенерация хряща после проведенного вмешательства происходит за счет образования волокнистого хряща. Для оценки результатов исследования использовали шкалы Lysholm — Gillquist, IKDC, ICRS. При сроках наблюдения до двух лет хороших результатов удалось достичь в 92,3% наблюдений, что доказывает эффективность разработанной нами методики для восстановления функции коленного сустава и замедления развития дегенеративно-дистрофических изменений.*

**Ключевые слова:** коленный сустав, рассекающий остеохондрит, хрящ, мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки.

### *Arthroplasty Using Autologous Multipotent Mesenchymal Cells and Collagen Membrane Chondro-Gide*

A.I. Bryanskiy, T.A. Kulyaba, N.N. Kornilov, V.P. Rumakin, V.S. Gornostaev

Pediatric Orthopaedic Institute named after G.I. Turner,  
Institute of Traumatology and Orthopaedic named after R.R. Vreden, St. Petersburg, Russia

*Surgical treatment results for 13 patients with local deep defects of the articular surface of femoral condyle are presented. Surgical treatment was performed in two steps. At first step diagnostic arthroscopy with removal of loose intraarticular bodies, resection of injured menisci and harvesting of fat body tissues for multipotent mesenchymal stromal cells (MMSC) isolation were applied. Second step consisted of knee arthroplasty; zone of defect was covered with collagen membrane Chondro-Gide under which MMSC were implanted. Control arthroscopy with biopsy of articular surface fragment in the zone of defect restoration was performed to four patients (30.8%) 2 years after arthroplasty. It is shown that after surgical intervention cartilage regeneration goes on owing to fibrillar cartilage formation. In 2 years follow up good results were achieved in 92.3% of cases that proved the efficacy of the elaborated technique for restoration of knee joint function and slowing down of degenerative-dystrophic changes development.*

**Key words:** knee joint, osteochondritis dissecans, cartilage, for multipotent mesenchymal stromal cells.

Локальные нарушения целостности хрящевого покрова являются частой причиной болей и нарушения функции коленного сустава [1]. Несмотря на большое количество используемых в настоящее время методик лечения [2–8], особенности гистологического строения хряща (отсутствие надхрящницы, непосредственный контакт матрикса с синовиальной жидкостью, являющейся основным источником питания хондроцитов, отсутствие кровеносных сосудов в хрящевой тка-

ни) обуславливают его низкий регенераторный потенциал и раннее развитие тотального дегенеративно-дистрофического процесса даже при ограниченных по площади глубоких повреждениях [9, 10].

Целью настоящего исследования было оценить эффективность предложенной нами методики артропластики с использованием аутологичных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК), полученных из ткани жирового

тела пациента, и имплантированных под коллагеновую мембрану Chondro-Gide.

#### ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

За период с 2009 по 2011 г. под нашим наблюдением находились 13 пациентов с дефектами суставной поверхности мыщелков бедренной кости в возрасте от 18 до 30 лет.

У большинства больных (8 (61,5%) наблюдений) травм коленного сустава в анамнезе не было, остальные указывали на перенесенную ранее спортивную — 3 (23,1%) или бытовую — 2 (15,4%) травму.

Средние оценки функции коленного сустава до начала лечения по шкале Lysholm — Gillquist составили 57 баллов (неудовлетворительно), по шкале IKDC: субъективная оценка — 51 (патология), объективная оценка — 3 (значительные изменения), физическая активность по шкале ICRS — 1 (низкая).

У 10 (76,9%) больных диагностирован рассекающий остеохондрит, у 2 (15,4%) — хондральные переломы и у 1 (7,7%) — хондромалиция 4-й степени. Сопутствующая патология коленного сустава, потребовавшая дополнительных манипуляций, выявлена у 5 (38,5%) больных: у 2 (15,4%) пациентов были повреждены мениски, в 1 (7,7%) наблюдении обнаружено повреждение передней крестообразной связки (ПКС), еще в 1 (7,7%) — сочетанное повреждение менисков и ПКС. У 1 (7,7%) пациента сопутствующая варусная деформация и начальные признаки гонартроза явились показанием к одномоментному выполнению подмышечковой корригирующей вальгизирующей остеотомии большеберцовой кости. У 8 (61,5%) больных в ходе первого этапа оперативного лечения удалены костно-хрящевые тела. В абсолютном большинстве наблюдений дефекты суставной поверхности были значительными по площади и составили около 2–3 см<sup>2</sup>, однако они не распространялись глубже подлежащей субхондральной пластинки.

*I этап — диагностическая артроскопия, забор фрагмента жирового тела для выращивания аутологичных ММСК.* В ходе артроскопии осматривали полость сустава, уточняли локализацию, размеры, глубину дефекта хряща мыщелка бедренной кости, нефиксированное внутрисуставное тело, при наличии, удаляли (рис. 1). Если диссектант на III стадии рассекающего остеохондрита оставался частично фиксированным к своему ложу, то его не удаляли, чтобы минимизировать повреждение на большеберцовой кости и не усиливать болевой синдром в послеоперационном периоде, планируя при повторном вмешательстве выполнить тотальное удаление нежизнеспособных тканей. При выявлении разрывов менисков их резецировали до здоровой ткани. Если имело место повреждение ПКС, то ее восстановление планировали вторым этапом одновременно с артропластикой.

Закончив артроскопию, расширяли медиальный (при поражении внутреннего мыщелка бедренной кости) или латеральный (при наличии дефекта на наружном мыщелке бедренной кости) доступы до 2 см и скальпелем резецировали необходимое количество жирового тела — до 1 см<sup>2</sup>. Жировую ткань помещали в стерильную пробирку с раствором гентамицина, на кожу накладывали швы.

*Лабораторное культивирование и типирование клеток.* Выращивание необходимого количества ММСК, их типирование и хранение осуществляли в лаборатории ООО «БиолоТ»: фрагмент ткани жирового тела измельчали, осаждали клетки центрифугированием. После ферментативной диссоциации клетки высаживали на специальную питательную среду. Выращенную популяцию клеток хранили в замороженном виде в жидком азоте.

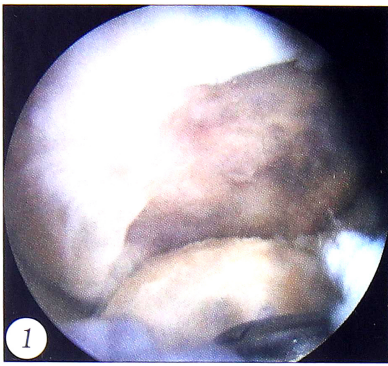
Характеристики культуры клеток подтверждали на основании общепринятых критериев — «Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells», the International Society for Cellular Therapy position statement [11].

Перед имплантацией клетки размораживали, помещали в раствор ферматрона объемом 1–2 мл. Необходимое количество жидкой среды определяли, основываясь на данных о глубине и площади дефекта, полученных на этапе артроскопии. Использовали ферматрон, так как он является протектором синовиальной жидкости, не вызывает агрессивной реакции тканей при его введении в полость коленного сустава и при этом обладает хорошими вязкостными свойствами, что было важно на втором этапе операции. При введении клеток в раствор ферматрона они равномерно распределяются во всем объеме.

*II этап — артропластика коленного сустава.* Через 2–3 нед пациентов госпитализировали в клинику для выполнения второго этапа хирургического лечения: артропластики коленного сустава. Дебридмент дна очага деструкции выполняли ложкой Фолькмана и распатором, добиваясь ровной и гладкой поверхности, удаляли частично фиксированные фрагменты. Далее выравнивали края дефекта, скальпелем резецировали нежизнеспособные и нестабильные участки хряща, определяя их визуально по тусклому цвету и пальпаторно пинцетом (рис. 2, а).

К обработанной таким образом зоне повреждения прикладывали прозрачную бумагу или фольгу, края дефекта обрисовывали на бумаге маркером. Из фольги или бумаги вырезали макет дефекта, по которому моделировали коллагеновую мембрану Chondro-Gide («Geistlich Pharma AG», Wolhusen, Швейцария).

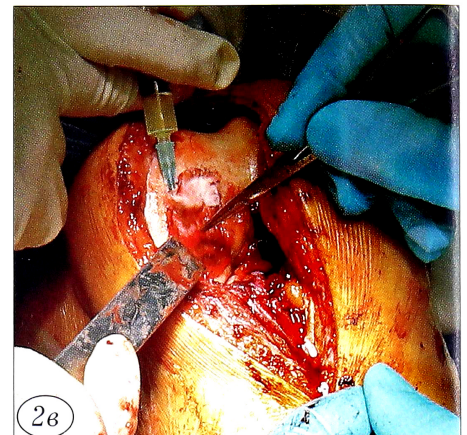
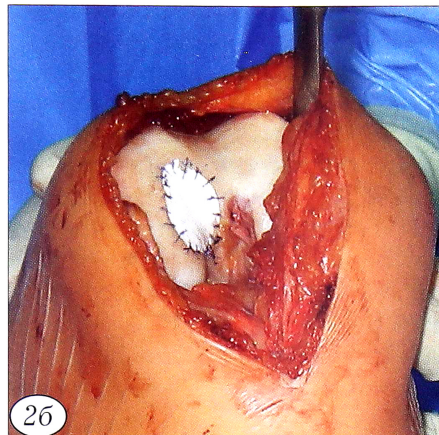
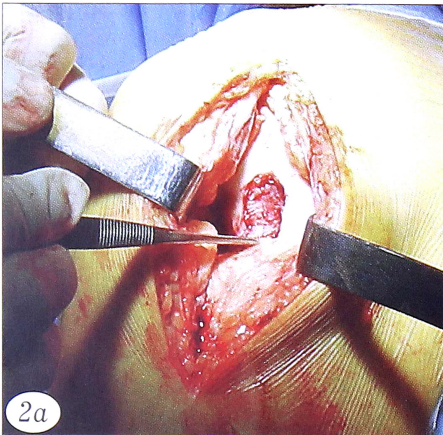
Мембрану подшивали узловыми швами к здоровому хрящу по контурам дефекта рассасывающейся нитью Викрил 6-0, расстояние между узлами — 3–5 мм (рис. 2, б). Для создания герметичной полости в зоне деструкции по линии шва дополнительно наносили фибриновый клей «Тиссукол Кит»



**Рис. 1.** Больной О. 24 лет. Рассекающий остеохондрит внутреннего мыщелка бедренной кости правого коленного сустава IV стадии. Свободное внутрисуставное тело в межмыщелковой выемке и «ниша» на внутреннем мыщелке бедренной кости.

**Рис. 2.** Этапы артропластики коленного сустава.

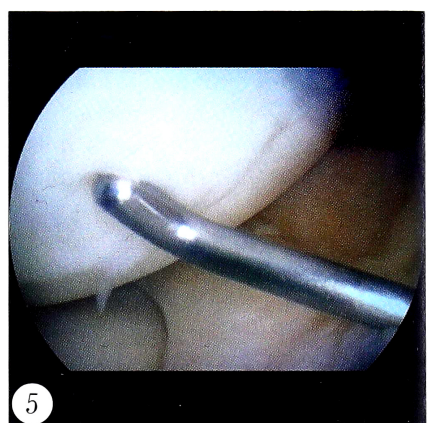
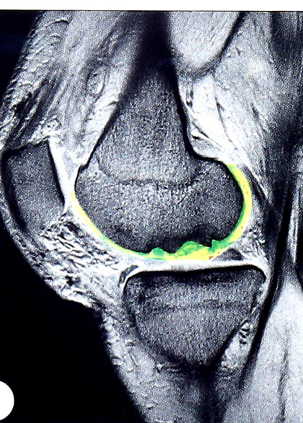
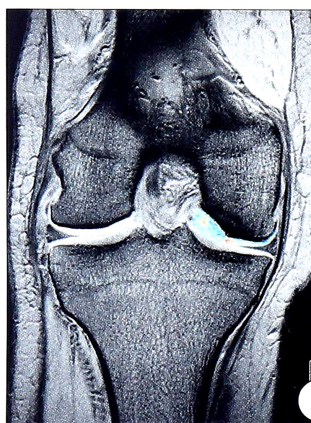
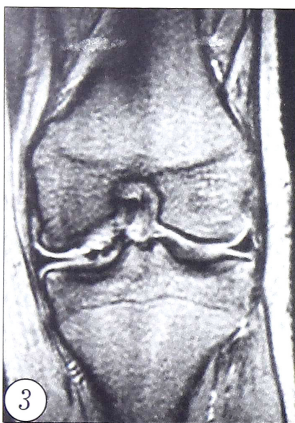
*a* — дебридмент дефекта внутреннего мыщелка бедренной кости правого коленного сустава;  
*б* — мембрана Chondro-Gide, подшитая к здоровому хрящу по контуру дефекта;  
*в* — введение культуры клеток в зону дефекта под мембрану Chondro-Gide.



(«BAХTER AG», Австрия). Под мембрану шприцом вводили 0,9% раствор NaCl, проверяя герметичность созданной полости. При необходимости дополнительно наносили клей. Далее шприцом в зону дефекта вводили суспензию аутологических ММСК в растворе ферматрона, который обеспечивал удержание под мембраной, и повторно проклеивали края мембраны Chondro-Gide (рис. 2, *в*).

Стабильность фиксации мембраны проверяли сгибательно-разгибательными движениями голени.

Рану послойно ушивали, у некоторых пациентов сустав дренировали. В раннем послеоперационном периоде назначали холод на область сустава, антибиотикопрофилактику инфекционных осложнений, обезболивающие препараты. Имобилизацию не применяли, назначали ранние пассивные движения и активную разработку движений. На 12-е–13-и сутки снимали швы, пациентов выписывали на амбулаторное лечение. Дозированную нагрузку рекомендовали через 7 нед,



**Рис. 3.** Данные МРТ больного Б. 20 лет через 6 мес после артропластики с использованием аутологических ММСК и коллагеновой мембраны Chondro-Gide.

**Рис. 4.** Данные МРТ больной А. 22 лет через 6 мес после артропластики правого коленного сустава с использованием аутологических ММСК и коллагеновой мембраны Chondro-Gide.

Визуализируется локальная зона красного спектра в зоне оперативного вмешательства, что наиболее вероятно соответствует повышенному содержанию жидкости регенерата.

**Рис. 5.** Данные артроскопии правого коленного сустава больного Л. 24 лет.

Дефект внутреннего мыщелка правой бедренной кости после артропластики с использованием аутологических ММСК, имплантированных под коллагеновую мембрану Chondro-Gide, замещен тканью, схожей макроскопически с хрящом.

полную — через 8–9 нед. Комплексное реабилитационное лечение включало лечебную физкультуру, массаж, водные и физиотерапевтические процедуры.

Работа выполнена с разрешения Комитета по этической экспертизе клинических и экспериментальных исследований РНИИТО им. Р.Р. Вредена. Все пациенты давали письменное согласие на участие в клиническом исследовании. На каждого пациента оформляли клиническую карту больного и паспорт клеточного материала.

### РЕЗУЛЬТАТЫ

Сроки наблюдения составили от 7 до 25 мес (в среднем 12 мес).

Непосредственные исходы оперативных вмешательств у пациентов были хорошими, инфекционных и других осложнений не отмечено. Все пациенты отмечали уменьшение болей и улучшение функции коленного сустава после операции.

Через 6 мес всем пациентам выполнена МРТ оперированного коленного сустава. Констатировали заполнение зоны дефекта новообразованной тканью с гипоинтенсивным сигналом; вокруг наблюдалась зона перифокального отека; распространения зоны некроза вглубь губчатой кости отмечено не было. Хрящ визуализировался практически на всем протяжении восстановленной суставной поверхности с отдельными участками линейного прерывания до 1–2 мм (рис. 3). Ряду пациентов была выполнена МРТ с использованием программного пакета MapIt («Siemens») в режиме t2v1, применяемого для определения структурной организации хряща и биохимического состава (рис. 4).

Четырем (30,8%) пациентам через 2 года после артропластики коленного сустава выполнена контрольная артроскопия с биопсией фрагмента суставной поверхности в области восстановления дефекта. Оценивали состояние внутрисуставных структур (мениски, крестообразные связки и синовиальная оболочка) и, прежде всего, хряща коленного сустава. Внутрисуставные структуры были без видимых патологических изменений. Визуально хрящ бедренно-надколенникового и бедренно-большеберцового отделов коленного сустава соответствовал здоровому, при пальпации артроскопическим крючком отмечалась локальная

или распространенная хондромалиция. В области пересадки культуры аутологичных ММСК под коллагеновую мембрану суставная поверхность была покрыта тканью, внешне схожей с окружающим гиалиновым хрящом, отличающейся более тусклым цветом и легкой поверхностной очаговой фибрилляцией (легким поверхностным очаговым разволокнением) по периметру бывшего дефекта; при пальпации артроскопическим крючком плотность хряща была несколько ниже, чем в других отделах сустава (рис. 5). Микроскопически на месте дефекта наблюдали широкую зону волокнистого хряща, интимно прилежащего к субхондральной пластинке с зональностью строения, характеризующейся отличием поверхностного, среднего и базального слоев, т.е. наличием вертикальной анизоморфности (рис. 6).

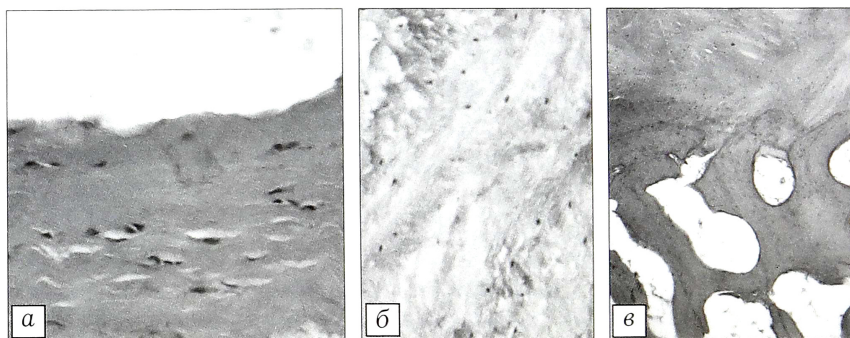
Средние оценки функционального состояния коленного сустава после оперативного лечения по шкале Lysholm — Gillquist составили 86 (хороший результат), по шкале IKDC: субъективная оценка — 83 (норма), объективная оценка — 2 (близко к норме); по шкале физической активности ICRS — 2 (умеренная).

Проведенный нами анализ показал, что при оперативных вмешательствах с использованием мембраны Chondro-Gide и аутологичных ММСК регенерация хряща происходит за счет образования волокнистого хряща. По результатам комплексной оценки субъективного и объективного состояния коленного сустава хороших результатов удается достичь в 92,3% наблюдений, что несколько выше в сравнении с другими методиками, применяемыми в аналогичных наблюдениях. Так, по данным литературы и нашим собственным исследованиям, положительных результатов при использовании методики стимулирования хондрогенеза — туннелизация, микрофрактуринг — удается достичь в 76–81% наблюдений [3, 12].

Достигнутый результат позволяет сделать вывод о том, что предложенная нами методика артропластики коленного сустава с использованием аутологичных ММСК и мембраны Chondro-Gide при глубоких локальных дефектах хряща позволяет уменьшить выраженность болевого синдрома, восстановить функцию коленного сустава и замедлить прогрессирование гонартроза.

**Рис. 6.** Тот же больной. Биоптат из области имплантации ММСК через 2 года после операции. Окраска гематоксилином и эозином.

*а* — поверхностные слои плотные, представлены упорядоченными пучками коллагеновых волокон с малой клеточностью, х 400; *б* — средний слой представлен на всем протяжении однотипными полями переплетающихся разнонаправленных пучков с единичными клетками, х 400; *в* — интимно связанные базальный слой и субхондральная кость, х 100.



ЛИТЕРАТУРА [ REFERENCES ]

1. Janos P.E., Kovacs G. Knee osteochondritis dissecans. California (U.S.A.): Univ. California; 2002.
2. Aichroth P. Osteochondritis dissecans of the knee. J. Bone Joint Surg. 1971; 53-B (3): 440-7.
3. Steadman J.R., Rodkey W.G., Rodrigo J.J. Microfracture: surgical technique and rehabilitation to treat chondral defects. Clin. Orthop. Relat. Res. 2001; 391: 362-9.
4. Куляба Т.А., Корнилов Н.Н., Селин А.В., Печинский А.И. Отдаленные результаты мозаичной костно-хрящевой аутопластики при лечении заболеваний и повреждений коленного сустава. Травматология и ортопедия России. 2007; 3 (приложение): 24 [Kulyaba T.A., Kornilov N.N., Selin A.V., Pechinskiy A.I. Long-term results of mosaic osteo-cartilagenous osteoplasty in treatment of knee joint pathology and injuries. Travmatologiya i ortopediya Rossii. 2007; 3 (suppl): 24 (in Russian)].
5. Hangody L., Vásárhelyi G., Hangody L.R., Sükösd Z., Tibay G., Bartha L., Vodó G. Autologous osteochondral grafting-technique and long-term results. Injury. 2008; 39, Suppl. 1: S32-9.
6. Brittberg M. Autologous chondrocyte implantation – technique and long-term follow up. Injury. 2008; 39 Suppl.1: S40-9.
7. Peterson L. Autologous chondrocyte transplantation biomechanics and long-term durability. Am. J. Sports Med. 2002; 30 (1): 2-12.
8. Manlin T.I., Mnaymneh W., Lo H.F., Hinkle D.K. Cryopreservation of articular cartilage. Ultrastructural observations and long term results of experimental distal femoral transplantation. Clin. Orthop. Relat. Res. 1994; 303: 18-32.
9. Павлова В.Н., Копьева Т.Н., Слуцкий Л.И., Павлов Г.Г. Хрящ. М.: Медицина; 1988: 104-13 [Pavlova V.N., Kop'eva T.N., Slutskiy L.I. Pavlov G.G. Cartilage. Moscow: Meditsina; 1988: 104-13 (in Russian)].
10. Fritz J., Eichhorn H.J., Aicher W.K. Praxisleitfaden der knorpelreparatur. Heidelberg: Springer Verlag. 2003.
11. Dominici M., Le Blanc K., Mueller I., Slaper-Cortenbach I., Marini F., Krause D. et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. Cytotherapy. 2006; 8 (4): 315-7.
12. Mithoefer K., Williams R.J. 3rd, Warren R.F., Potter H.G., Spock C.R., Jones E.C. et al. The microfracture technique for the treatment of articular cartilage lesions in the knee. A prospective cohort study. J. Bone Joint Surg. Am. 2005; 87 (9): 1911-20.

**Сведения об авторах:** Брянская А.И. — канд. мед. наук, науч. сотр. отделения последствий травм и ревматоидного артрита НИДОИ им. Г.И. Турнера; Куляба Т.А. — доктор мед. наук, науч. рук. отделения патологии коленного сустава РНИИТО им. Р.Р. Вредена; Корнилов Н.Н. — доктор мед. наук, вед. науч. сотр. отделения патологии коленного сустава РНИИТО им. Р.Р. Вредена; Румакин В.П. — канд. мед. наук, зав. патологоанатомическим отделением РНИИТО им. Р.Р. Вредена; Горностаев В.С. — канд. биол. наук, ген. директор ООО «БиолоТ». Для контактов: Брянская Анастасия Ивановна. 196603, Санкт-Петербург, Пушкин, ул. Парковая, д.64-68. Тел.: 8 (812) 451-90-71. E-mail: a\_bryanskaya@mail.ru

## ИНФОРМАЦИЯ

### X ЮБИЛЕЙНЫЙ СЪЕЗД ТРАВМАТОЛОГОВ-ОРТОПЕДОВ РОССИИ

16-19 сентября 2014 г., Москва

Организаторы:

Министерство здравоохранения РФ, Ассоциация травматологов-ортопедов России, ФГБУ «ЦИТО им. Н.Н. Приорова» Минздрава России, Правительство Москвы, МОО «Человек и его здоровье»

#### ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ:

- Организация травматолого-ортопедической помощи в Российской Федерации.
- Современные технологии непрерывного медицинского образования и инновационные формы обучения в травматологии и ортопедии.
- Современные технологии диагностики и реабилитации в травматологии и ортопедии.
- Современные методы лечения повреждений и заболеваний опорно-двигательного аппарата.
- Актуальные вопросы повреждений и заболеваний позвоночника.
- Актуальные вопросы детской травматологии и ортопедии.
- Актуальные вопросы спортивной травматологии и ортопедии.
- Актуальные вопросы регенерации, трансплантации тканей и клеточных технологий в травматологии и ортопедии.
- Эндопротезирование суставов.
- Реконструктивно-пластическая ортопедия.
- Остеопороз.
- Политравма.

#### Секретариат:

127299, Москва, ул. Приорова, д. 10, ЦИТО, Ученый совет ЦИТО, тел. 8 (495) 450-45-11

Организационно-методический отдел, тел.: 8 (495) 708-80-12

E-mail: cito-uchsovet@mail.ru; cito-omo@mail.ru

#### Технический комитет:

МОО «Человек и его здоровье»

Тел/факс 8 (812) 380-31-54; 8 (812) 380-31-55, E-mail: ph@peterlink.ru

Куратор проекта: Мерзлякова Анна

Подробная информация на сайте: www.congres ph.ru