

А. Л. Жуликов, Д. А. Маланин, В. В. Новочадов, А. Н. Горячев

Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоградский научный центр РАМН и АВО

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ БЕСКОНТАКТНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ХОЛОДНОЙ ПЛАЗМЫ НА СУСТАВНОЙ ХРЯЩ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

УДК 616.72:615.83

Значительная распространенность, а в связи с этим высокая медицинская и социальная значимость ставят остеоартроз в ряд ведущих заболеваний нашего времени. Для его лечения необходимо добиться соответствия формы сочленяющихся суставных поверхностей при помощи дебридмента. В данной работе экспериментально показано преимущество холодноплазменного дебридмента. Для оценки эффективности методики использовали морфологическое и морфометрическое исследование. Результаты показали эффективность и безопасность применения холодноплазменной абляции для обработки различного вида повреждений суставного хряща, а также преимущество в достижении соответствия сочленяющихся поверхностей сустава.

Ключевые слова: остеоартроз, дебридмент, холодноплазменная абляция.

A. L. Zhulikov, D. A. Malanin, V. V. Novochadov, A. N. Goriachev

MORPHOLOGICAL AND MORPHOMETRIC RESULTS OF CONTACTLESS EFFECT OF COLD PLASMA ON ARTICULAR CARTILAGE IN EXPERIMENT

To treat osteoarthritis effectively, it is necessary to achieve a stable edge and smooth articular cartilage surfaces. Results of clinical observations have demonstrated the advantages of cold-plasma ablation debridement of articular cartilage. We evaluated the efficacy of the cold-plasma ablation technique by using morphological and morphometric studies. Cold-plasma ablation has been shown to be effective and safe in debriding articular cartilage lesions, achieving edge stability and a smooth articular cartilage surface.

Key words: osteoarthritis, debridement, cold-plasma ablation technique.

Характер труда и жизни, вовлечение в занятия спортом большого количества людей приводят к увеличению числа травматических повреждений и дегенеративных заболеваний коленного сустава. Значительная распространенность, а в связи с этим высокая медицинская и социальная значимость у больных ставят деформирующий остеоартроз (ОА) суставов нижних конечностей в один ряд с ведущими заболеваниями нашего времени, а с необходимостью лечения этой патологии мы сталкиваемся все более часто.

Остеоартроз — полиэтиологичный процесс, в развитии которого механические факторы играют одну из ведущих ролей. Он характеризуется подобными биологическими, морфологическими и клиническими проявлениями, а также исходом. В основе их лежат изменения в структуре и функции целого сустава, а стратегия лечения направлена на уменьшение боли и улучшение его функции [3, 8].

Для восстановления полноценной работоспособности сустава необходимо добиться соответствия формы суставных поверхностей.

Однако в связи с несовершенством биологических процессов регенерации хрящевых повреждений, а также необходимостью восстановления анатомической формы суставных поверхно-

стей лечение данной патологии является непростой задачей.

В клинической практике используются различные способы лечения — консервативный и хирургический, которые применяются самостоятельно и в комбинации. Один из методов оперативного лечения — артроскопический. Его видами являются механический, лазерный и холодноплазменный дебридмент. Задачи, которые решаются при помощи дебридмента, направлены на устранение механических нарушений непрерывности суставных поверхностей, сглаживание неровностей, разволокнений, удаление свободно отделяющихся и нефиксированных фрагментов или лоскутов хряща, а также создание условий для регенерации хряща [1, 2, 4].

Согласно ряду исследовательских работ, механический дебридмент не позволяет добиться достаточно гладкой поверхности хряща [6], но может усилить разволокнение хряща и вызвать некроз хондроцитов. Механическое воздействие на поврежденную суставную поверхность нередко приводит к прогрессированию дегенерации хряща.

Современные технологии в области эндоскопической хирургии связывают развитие «бесконтактного дебридмента» с холодной плазмой, хотя

клиническое применение этого метода опережает данные научных исследований [5, 7, 9].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Обоснование преимуществ применения методики холодноплазменной абляции при лечении повреждений и заболеваний суставного гиалинового хряща.

В задачи входило морфологическое и морфометрическое исследование холодноплазменного дебридмента *in vitro* и *in vivo*.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Для исследования послужили костно-хрящевые блоки, полученные интраоперационно в качестве утильного материала после операций по эндопротезированию, а также коленные суставы подопытных животных (собак).

Эксперимент проводили в два этапа. Первый этап — это сравнение механического и холодноплазменного дебридмента. Обработку хряща осуществляли на утильном материале механическим артрошейвером «Stryker» (США) на выделенных и маркированных 12 поверхностных и 12 полнослойных дефектах, а холодноплазменную абляцию проводили в прозрачной емкости с физиологическим раствором бесконтактным способом биполярным радиочастотным электродом «Paragon T2» аппарата «Atlas» (ArthroCare). Количество дефектов, обработанных холодной плазмой и расположенных на тех же костно-хрящевых фрагментах, было аналогичным. Использовали следующие способы обработки суставных поверхностей — линейное и подобное художественной кисти воздействие со скоростью 3—4 мм/с, в шестом режиме.

Подготовленные для гистологического исследования препараты фиксировали в 10%-м растворе формалина, декальцинировали трилоном Б (динатриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты) с проводкой материала по спиртам возрастающей плотности и окрашивали гематоксилином и эозином, трихром по Массону.

Для оценки полученных результатов использовался микроскоп «Микмед 6» (ЛОМО), цифровая камера «ДСМ-300» с лицензируемым программным обеспечением Score Photo. Сравнительную морфометрию тканей, обработанных механически и с помощью холодной плазмы, после получения оцифрованного изображения тканей проводили с помощью аппаратного комплекса «Видеотест Морфо 3.0» (Россия, СПб).

Вторым этапом исследования было проведение эксперимента на животных (собаках). Шести беспородным собакам, средний возраст которых составлял 4,5 года, была произведена артротомия коленных суставов и нанесены механические повреждения при помощи скальпеля и зубного бура в обозначенных на схеме малонагружаемых зо-

нах мышечков бедра. Повреждения представляли собой: полнослойный дефект, плоскостное повреждение, трещины и разволокнение (рис. 1).

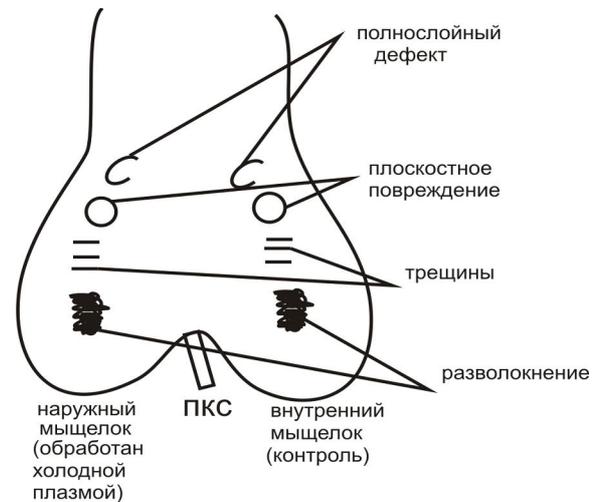


Рис. 1. Повреждения на мышечках бедра собаки (схема, фото)

Повреждения на наружном мышце были обработаны методом холодноплазменной абляции, внутренний мышце служил контролем и обработке не подвергался. Забор материала был произведен через 4, 8, 16 недель после операции.

Для количественной оценки морфологических изменений в тканях экспериментальных животных использовали программный пакет Image Tool for Windows, ver. 3.00 (UTHSCSA, USA, 2002). Морфометрии подвергали электронные фотографии гистологических срезов, на которых определяли фактор поверхности, удельный объем хондроцитов, соединительной ткани, хрящевого матрикса, среднюю глубину дефекта хряща. Математическая обработка проводилась непосредственно из общей матрицы данных EXCEL 7.0 (Microsoft, USA) с привлечением возможностей программ

STATGRAPH 5.1 (Microsoft, USA) и включала определение показателей средней, ее среднеквадратичного отклонения и ошибки репрезентативности.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе эксперимента при сравнительном морфометрическом исследовании обработанных зон хряща показатель их сглаживания количественно подтверждался изменением фактора поверхности. Этот показатель, численно описывающий неровность поверхности, после повреждения обычно был близок к 4,0.

После механического дебридмента поверхностных повреждений он уменьшался более чем вдвое, а после холодноплазменной абляции — в 3,1 раза и приближался к значениям данного показателя для неповрежденного суставного хряща (рис. 2, 3, табл. 1).

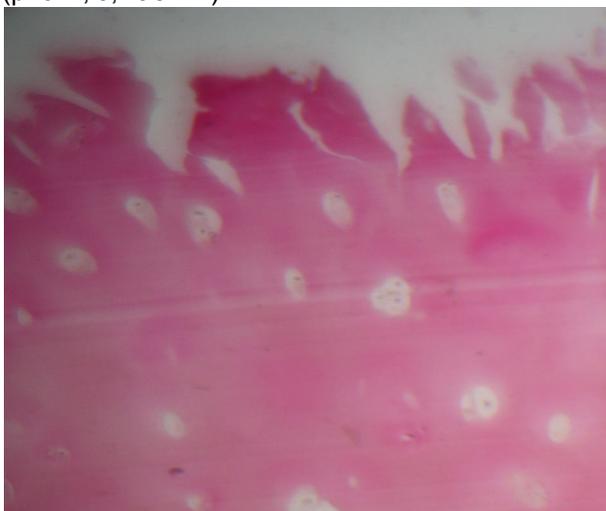


Рис. 2. Механическая обработка хряща артрошейвером. Отмечается неровность контура поверхности суставного хряща

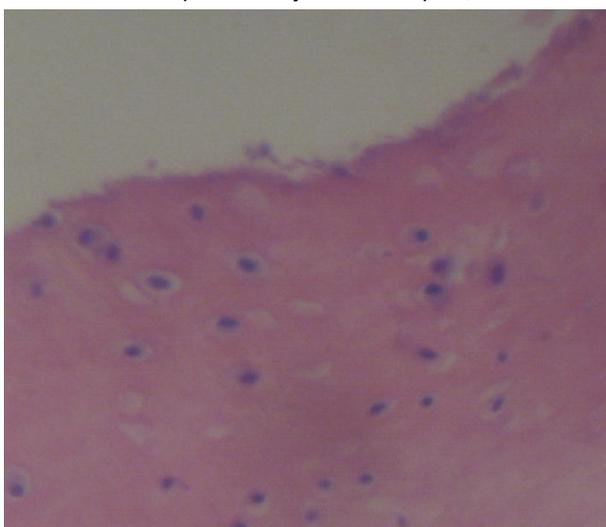


Рис. 3. Холодноплазменная обработка хряща радиочастотным электродом. Восстановлена естественная непрерывность и контур поверхности суставного хряща

Изменение значения фактора поверхности при обработке полнослойных повреждений выявил относительно небольшой эффект сглаживания в результате механического дебридмента (снижение в 1,5 раза) при существенно лучших показателях для холодноплазменной абляции (снижение в 3 раза).

Также о преимуществе холодноплазменной абляции по сравнению с механическим дебридментом говорит следующий факт: процент поврежденных хондроцитов после обработки холодной плазмой был меньше как при поверхностных дефектах, так и полнослойных и отличался в 0,5—2,1 раза (табл. 1).

ТАБЛИЦА 1

Количественные показатели структуры хряща при механическом дебридменте и холодноплазменной абляции ($M \pm m$)

Показатель	Повреждение без дебридмента	Механический дебридмент	Холодноплазменная абляция
Поверхностные повреждения			
Фактор поверхности	3,77 ± 0,21*	1,55 ± 0,13*#	1,20 ± 0,11*#
Градиент яркости, ед./мкм	1,12 ± 0,09*	0,45 ± 0,10*#	0,12 ± 0,01*#
Поврежденные хондроциты, %	2,0 ± 0,3	2,1 ± 0,5	1,5 ± 0,4
Полнослойные повреждения			
Фактор поверхности	4,10 ± 0,33*	2,73 ± 0,19*#	1,42 ± 0,23*#
Поврежденные хондроциты, %	32,7 ± 1,8*	18,5 ± 1,8*#	8,5 ± 0,9*#
Нативный суставной хрящ			
Фактор поверхности	1,05 ± 0,07		
Градиент яркости, ед./мкм	0,05 ± 0,01		
Поврежденные хондроциты, %	2,1 ± 0,3		

* Достоверные различия со значением показателя для нативного хряща,

для поврежденного хряща без дебридмента.

При изучении участков наиболее распространенных видов повреждений суставного хряща после их обработки холодной плазмой у животных также имелись определенные различия, что видно из табл. 2.

При **полнослойных дефектах** хряща обработка холодной плазмой в значительной мере изменяла интенсивность и характер регенераторного процесса. После абляции поверхность суставного хряща на всех сроках эксперимента выглядела менее деформированной, отсутствовали явления частичной отслойки поверхностного слоя в отличие от контрольных зон со спонтанной регенерацией дефекта. После обработки холодной плазмой явления вторичной деструкции хряща вокруг зоны дефекта не были так заметно выражены, как при спонтанной регенерации. Сам регенерат был значительно менее васкуляризирован и содержал на треть больше хондроцитов, хрящевого матрикса и на 46 % меньше элементов соединительной ткани по сравнению с контрольной группой. Оценивая эти данные, в какой-то степени, можно по-

думать об определенном смещении регенерации на путь хондрогенеза под действием холодноплазменного дебридмента.

ТАБЛИЦА 2

Морфометрическое исследование участков суставного хряща собак с обработкой холодной плазмой и контрольной группы (без обработки) ($M \pm m$)

Показатель		Контрольная группа (без обработки холодной плазмой)	Опытная группа (с обработкой холодной плазмой)
Полнослойный дефект	Фактор поверхности суставного хряща, ед.	0,68 ± 0,13	0,92 ± 0,06*
	Удельный объем хондроцитов, %	3,43 ± 0,60	8,61 ± 1,81*
	Удельный объем соединительной ткани, %	68,59 ± 7,38	31,55 ± 2,42*
	Удельный объем хрящевого матрикса, %	23,18 ± 1,86	58,75 ± 4,31*
	Средняя глубина дефекта (% ко всей толщце гиалинового хряща)	49,32 ± 7,07	34,09 ± 4,80*
Плоскостной дефект	Фактор поверхности суставного хряща, ед.	0,77 ± 0,05	0,94 ± 0,02*
	Удельный объем хондроцитов, %	5,51 ± 0,34	6,69 ± 0,91*
	Удельный объем соединительной ткани, %	47,96 ± 8,30	24,01 ± 4,32*
	Удельный объем хрящевого матрикса, %	43,02 ± 3,30	68,85 ± 5,11*
	Средняя глубина дефекта (% ко всей толщце гиалинового хряща)	20,14 ± 2,33	14,87 ± 0,97*
Трещина хряща	Фактор поверхности суставного хряща, ед.	0,85 ± 0,12	0,32 ± 0,18*
	Удельный объем хондроцитов, %	3,44 ± 0,15	4,15 ± 0,61
	Удельный объем соединительной ткани, %	61,53 ± 12,49	42,31 ± 7,22
	Удельный объем хрящевого матрикса, %	34,28 ± 1,81	49,16 ± 2,62*
	Средняя глубина дефекта (% ко всей толщце гиалинового хряща)	94,36 ± 9,93	85,14 ± 13,41
Разволокнение	Фактор поверхности суставного хряща, ед.	0,84 ± 0,09	0,90 ± 0,04
	Удельный объем хондроцитов, %	6,88 ± 0,74	7,39 ± 0,31
	Удельный объем соединительной ткани, %	58,30 ± 3,39	62,73 ± 5,44
	Удельный объем хрящевого матрикса, %	32,38 ± 2,27	27,63 ± 3,13
	Средняя глубина дефекта (% ко всей толщце гиалинового хряща)	17,51 ± 3,69	19,73 ± 4,82

* Достоверные различия между группами, $p \leq 0,05$.

Изучение зон поверхностных повреждений дало следующие результаты.

Исследование **плоскостного дефекта** хряща показало, что при холодноплазменной абляции дефект сравнивается с окружающей неповрежденной поверхностью. В динамике наблюдения отсутствуют вторичные деструктивные изменения, тогда как в контрольных зонах выявляются отслойки поверхностного слоя, нарушение хода коллагеновых волокон и дистрофические изменения в изогенных группах хондроцитов.

При **дефектах в виде трещины** холодноплазменная абляция за счет уплотнения поверхностных слоев хряща и частичного сглаживания краевой зоны стабилизирует края дефекта. Морфологически появлялись незначительные признаки регенераторного процесса в окружающих тканях. В контрольной группе повреждений в окружающем трещину хряще обнаруживались вторичные изменения, приводящие к его разволокнению, появлению горизонтальных растрескиваний и увеличению объема дефекта.

При дефектах, имеющих вид **разволокнения**, применение холодноплазменного дебридмента сопровождалось уплотнением поверхностной зоны хряща за счет аморфного склеивания части разволокненных участков, а остальной объем дефекта замещался преимущественно соединительной тканью. В контрольной группе, где какая-либо обработка повреждений не осуществлялась, хрящ в зоне разволокнения характеризовался явлениями умеренной деструкцией и замещением волокнистой соединительной тканью. При этом фибробласты и коллагеновые волокна как бы «наползали» на суставную поверхность.

Сравнительные результаты исследования механического и холодноплазменного дебридмента показали несомненное преимущество в достижении более гладкой поверхности хряща после холодноплазменной обработки. Подобные результаты были получены в работах Edwards R. B., et al. (2008), Lotto M. L., et al. (2008), которые продемонстрировали, что лучшие показатели сглаживания при холодноплазменной обработке были достигнуты в 90 % наблюдений по сравнению с механической обработкой, при которой приемлемый результат сглаживания был достигнут только в 49 % случаев [6, 9].

По нашим данным, эффект от воздействия холодной плазмы достигается только в зоне обработки и не реализуется в виде повреждения глуболежащих тканей. Процент поврежденных хондроцитов в обработанной холодной плазмой и прилегающей к ней пограничной зоне был в 0,5—2,1 раза меньше, чем в области механического дебридмента. Подобные сравнительные данные получили Edwards R. B., et al. (2008) и Lotto M. L., et al. (2008), которые показали наименьшую клеточную гибель в обработанных холодной плазмой и приграничных с ними зонах [6, 9].

В литературных источниках не обсуждается вопрос зависимости качества сглаживания различных видов повреждений суставного хряща, а также репаративного ответа хрящевой ткани на воздействие холодной плазмы. В нашем исследовании на животных показаны очевидные отличия в состоянии обработанной суставной поверхности хряща в зависимости от вида повреждения. Лучшие результаты в сглаживании, уплотнение кол-

лагенового матрикса и наименьшая гибель хондроцитов получены при поверхностных повреждениях. Снижение васкуляризации и уменьшение содержания соединительной ткани в регенерате говорило о том, что, возможно, холодноплазменная обработка тормозит процессы фиброобразования и стимулирует хондрогенез.

Эффективность данного метода высока при всех исследуемых видах повреждений и имеет общую тенденцию вне зависимости от сроков развития репаративных процессов.

Эти данные необходимо учитывать в клинической практике при выполнении холодноплазменного дебридмента различных видов повреждений суставной поверхности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подводя итоги морфологического и морфометрического исследования, можно сделать вывод о том, что холодноплазменная обработка поверхности сустава является перспективным методом в лечении повреждений хрящевой поверхности сустава. Результаты экспериментального исследования показали эффективность и безопасность применения холодноплазменной абляции для обработки различного вида повреждений суставного хряща, а также объективные преимущества в достижении конгруэнтных поверхностей по

сравнению с использованием механического способа обработки хряща.

Ценность этого метода, по данным морфологии, в том, что он тормозит процессы вторичных деструктивных изменений в поврежденном хряще, предохраняя последний от разрастания соединительной ткани и необратимой деформации конгруэнтной суставной поверхности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ахметьянов Р. Ф., Зайцев Ю. Н., Пиотрович Е. А. и др. // Medline.ru. — 2005. — Т. 6. — С. 6—9.
2. Иванников С., Оганесян О., Шестерня Н. Лазерная артроскопическая хирургия. Дегенеративно-дистрофические поражения коленного сустава. — М.: Бином. Лаборатория знаний. Медицина. — 2002.
3. Маколкин В. И., Меньшикова И. В. // Терапевтический архив — 2005. — № 5. — С. 83—86.
4. Орлецкий А. К., Езеев А. Р. // Мед. помощь. — 2008. — № 4. — С. 22—28.
5. Berjano E. J. // Biomed. Eng. Online. — 2006. — P. 5—24.
6. Edwards R. B., Lu Y., Cole B. J., et al. // Vet. Comp. Orthop. Traumatol. — 2008. — № 21 (1). — P. 41—48.
7. Good C. R., Shindle M. K., Griffith M. H., et al. // J. Bone Joint Surg Am. — 2009. — № 91 (2). — P. 429—434.
8. Hunter D., Felson D. // BMJ. — 2006. — № 332 (7542). — P. 639—642.
9. Lotto M. L., Wright E. J., Appleby D., et al. // Arthroscopy. — 2008. — № 24 (4). — P. 410—415.