

ВЛИЯНИЕ ХОЛОДНО-ПЛАЗМЕННОЙ АБЛАЦИИ НА ХРЯЩ КОЛЕННОГО СУСТАВА ЧЕЛОВЕКА И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЖИВОТНОГО

В.Б. Богатов, О.В. Матвеева, А.Б. Петров

ФГУ «Саратовский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии Минздрава России», директор – д.м.н. профессор И.А. Норкин г. Саратов

За последнее десятилетие в артроскопии коленного сустава всё шире стали использоваться физические методы воздействия на внутрисуставные структуры при помощи холодно-плазменных абляторов. Данная статья посвящена изучению воздействия холодно-плазменной абляции на суставной хрящ человека *in vitro* и собак *in vivo*. Выполнялись гистоморфологические исследования суставного хряща человека сразу после воздействия ХПА. У животных производилось морфологическое и МРТ-исследование коленных суставов через три месяца после воздействия. Показано, что холодно-плазменная абляция способна вызывать одномоментное изменение плотности коллагена в суставном хряще человека *in vitro*, а также гибель клеток суставного хряща у животных *in vivo* через 3 месяца после воздействия. При этом глубина некроза после воздействия ХПА у экспериментального животного значительно превышает пределы субхондральной кости.

Ключевые слова: коленный сустав, хрящ, холодно-плазменная абляция.

THE INFLUENCE OF COLD PLASMA ABLATION ON HUMAN AND ANIMAL KNEE JOINT CARTILAGE

V.B. Bogatov, O.V. Matveeva, A.B. Petrov

Cold plasma ablation is widely used in knee arthroscopy during past decade. We studied its influence on knee joint cartilage in a human *in vitro* and in dogs *in vivo*. Histomorphological study was performed in a human cartilage right after the exposition of CPA. In animals MRI and morphological study were performed after three months of exposition of CPA. It was shown that CPA was able to cause immediate changes of collagen in the human cartilage *in vitro* and also death of chondrocytes in animal *in vivo* after three months. The depth of necrosis of the cartilage in animal was significantly deeper the subchondral bone.

Key words: knee joint, cartilage, cold plasma ablation.

За последнее десятилетие в хирургии коленного сустава стали широко применяться достижения фундаментальной физики, к которым относятся холодно-плазменные (радиочастотные) абляторы. Принцип действия этих аппаратов заключается в том, что создаваемый между двумя электродами высоковольтный разряд с частотой около 330 кГц способен локально разрушать клетки. Регулируя частоту и силу тока между двумя электродами, можно добиться либо эффекта рассечения тканей, либо их коагуляции. В основе этих эффектов лежит процесс денатурации белка. Локальная температура в очаге деструкции достигает 60–66° С, при этом глубина воздействия на хрящ не превышает 2 мм для биполярных электродов [11]. Холодно-плазменная абляция (ХПА) применяется в хирургии коленного сустава для удаления разорванных менисков, обработки суставного хряща, гофрирования поврежденной капсулы сустава и связок [5]. Однако до настоящего времени остаётся много неясного как в самих процессах, протекающих во время абляции, так

и в отдалённых клинических результатах [10]. Имеются данные о возникновении некроза суставного хряща у человека после применения ХПА. При этом не понятно, чем вызвана гибель хондроцитов: или расщеплением молекул белка под действием высокочастотного радиочастотного излучения, или тепловым эффектом, создаваемым в результате нагрева тканей [2]. Изучению данной проблемы были посвящены работы Y. Lu с соавторами [7, 8], которые исследовали воздействие высокочастотных полей на живые ткани в различных режимах. Авторами было показано, что через одну секунду после радиочастотного воздействия наступала гибель хондроцитов вплоть до субхондрального слоя. Позднее S. Caffey с соавторами [3] постарались определить минимальную энергию высокочастотного поля, способную вызывать значительную гибель клеток суставного хряща человека. Было исследовано 5 наиболее широко распространённых типов электродов (моно- и биполярных) при минимально возможных режимах абляции в течение от 1 до 3 секунд. Было обна-

ружено, что гибель хондроцитов наступала в виде полусферы на глубину от 404 до 539 мкм во время секундного воздействия и увеличивалась до 1283 мкм при трёхсекундной экспозиции. При этом не наблюдалось достоверного различия как для типа электрода, так и для моно- или биполярной абляции. Незначительной гибели хондроцитов удалось достичь лишь в случаях, когда электроды располагались на расстоянии более 1 мм от поверхности хряща. В итоге авторы сделали вывод, что ХПА способна вызывать серьёзные повреждения суставного хряща даже при минимально допустимых режимах использования, регламентированных фирмами-изготовителями.

Аналогичную экспериментальную работу на изолированных коленных суставах свиней выполнили R.T. Allen с соавторами [1]. При этом сравнивалось разрушающее действие ХПА и шейвера с баскетными кусачками на мениски и суставной хрящ. Было показано, что гибель хондроцитов при воздействии ХПА наступала на глубину около 500 мкм, что сравнимо с поражающими факторами классических механических устройств (шейвера и кусачек). Авторы также делают вывод, что ХПА менее травматична при удалении повреждённой ткани мениска, так как при её использовании не травмируются близлежащие суставные поверхности бедренной и большеберцовых костей. Однако надо отметить, что авторы этих исследований изучали одномоментное воздействие ХПА на суставной хрящ в лабораторных условиях.

Сторонники использования ХПА считают её эффекты положительными, объясняя это следующим образом. В режиме коагуляции происходит перестройка волокон коллагена, при этом образуются короткие цепи, которые, уплотняясь, способны переплетаться между собой. Это приводит к образованию плотного рубца и может быть использовано для «сваривания разрывов менисков» и «гофрирования передней крестообразной связки» при её растяжениях [10, 11]. Однако не исключено, что при этом достигается лишь одномоментный эффект, вскоре после которого происходит разрушение передней крестообразной связки [9].

К. Yasuga с соавторами [12] исследовали влияние монополярной ХПА на суставной хрящ человека *in vitro*. Было показано, что при неполнослойных повреждениях суставного хряща ХПА способна вызывать положительный эффект, так как создаётся прочная покровная плёнка из денатурированного коллагена, которая предотвращает дальнейшее разрушение хряща. При этом значительной гибели хондро-

цитов не наблюдалось. Более того, значительно уменьшалось содержание металлопротеиназ, что гипотетически должно замедлять процессы дезорганизации суставного хряща у человека в клинических условиях. Вместе с тем, в работе подчёркивается необходимость выполнения аналогичных исследований *in vivo*, включая анализ отдалённых результатов. Аналогичные данные можно встретить в работе J. Cook с соавторами [4], которая посвящена изучению изменения биохимического состава суставного хряща собаки *in vitro*. Исследователи показали, что после трёхсекундного воздействия ХПА наблюдается уменьшение в суставном хряще металлопротеиназ, а также глюкозаминогликанов. Отмечено также, что гибель хондроцитов была незначительной. В итоге авторы считают перспективным применение ХПА при лечении дегенеративных заболеваний суставного хряща.

Особый интерес вызывает публикация исследователей из Германии, в которой прослежены отдалённые результаты воздействия ХПА *in vivo* на суставной хрящ овец через 24 недели [6]. Интересно, что авторы сравнивали отдалённые макроскопические результаты с гистологическими данными. В итоге при помощи конфокальной и электронной микроскопии было показано, что через 24 недели после воздействия на суставной хрящ овец отмечается полнослойная гибель хряща по типу «центрального изъязвления». Причём это прогрессирующий процесс, так как *in vitro* при тех же условиях сразу после воздействия гибель хондроцитов наступала только на одну четверть глубины хряща. В итоге авторы делают заключение, что в клинической практике, несмотря на «всю привлекательность картинку, которую даёт ХПА, сглаживая неровности повреждённого суставного хряща», отдалённые результаты могут быть не столь обнадеживающими. Данное исследование показалось нам весьма интересным, и было решено положить его в основу собственной экспериментальной работы, которая позволила бы также сравнить эффекты ХПА на суставной хрящ человека *in vitro*, *in vivo* через 12 месяцев, а также собак через 3 месяца после воздействия.

Цель эксперимента – изучить влияние холодно-плазменной абляции на суставной хрящ коленного сустава *in vitro* и *in vivo*.

Задачи исследования:

- изучить гистоморфологические изменения в суставном хряще человека после одномоментного непосредственного воздействия холодно-плазменной абляции *in vitro*;
- проанализировать отдалённые результаты применения ХПА на суставной хрящ животных.

Материал и методы

Суставные поверхности с хрящом, полученные в ходе операций эндопротезирования коленного и тазобедренного суставов. Суставной хрящ помещали в стерильный изотонический раствор хлорида натрия, где производилась ХПА в режимах коагуляции и резки (рис. 1). Использовались аппараты VAPR 3 (Mitek) и Arthrocare (Sante MS) с различными видами монополярных электродов.

Далее фрагменты суставного хряща с субхондральной костью отправлялись на гистологическое исследование. Препараты фиксировали в растворе нейтрального 12% формалина, затем заливали в парафиновые блоки. Готовили срезы толщиной 5 мкм в поперечном и продольном направлениях. Наиболее репрезентативные срезы окрашивали гематоксилином-эозином и фиксировали на предметные стёкла.

На данном препарате хорошо просматривается зона перехода суставного хряща в субхондральную кость (показана стрелкой) (рис. 2).



Рис. 1. Головка бедренной кости (стрелкой показана зона воздействия ХПА)

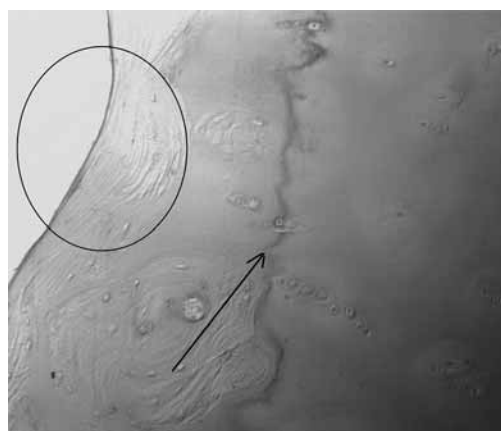


Рис. 2. Гистологический вид препарата «хрящ – кость». Окраска гематоксилином-эозином, ув. x 100

Очаг воздействия ХПА в режиме коагуляции практически неразличим (показан кругом). Он отличается от близлежащей ткани лишь менее плотным коллагеном. Глубина проникновения ХПА не превышает половины толщины хряща. Следует отметить, что различия в гистологической картине на препаратах, где производилось воздействие в режимах резки и коагуляции не выявлено. При увеличении в 400 раз данная зона выглядит также малоизменённой (рис. 3).



Рис. 3. Периферическая часть суставного хряща человека после воздействия ХПА, ув. x 400

Было показано, что одномоментное воздействие ХПА на суставной хрящ и субхондральную кость практически не влияет на их структуру.

Для изучения отдалённых результатов влияния ХПА на суставной хрящ использовались 2 беспородные собаки в возрасте от 1,5 до 2 лет и весом 6,8–7,3 кг. В качестве контроля использовалось аналогичное животное, которому выполнялась артротомия коленного сустава без воздействия ХПА. Операции проводили в стерильных условиях под кетаминевой анестезией. На момент операции все животные были здоровы. Коленные суставы животных вскрывались медиопателлярным доступом. Полость сустава постоянно промывалась стерильным физраствором. ХПА производилась на суставном хряще на различных его участках (по передней и медиальной поверхности мыщелка бедра в зоне перехода суставного хряща в синовиальную оболочку) в режимах резки и коагуляции и имела точечный характер. Время воздействия в каждом режиме составляло около 1 секунды (рис. 4).

После операции животные содержались в обычных условиях, при этом какие-либо лекарственные препараты не применялись. Через 3 месяца после операции животных выводили из эксперимента. Задние конечности отсекали на уровне верхней трети бедра и сразу отправляли

на МРТ-исследование. Затем коленные суставы животных вскрывали и визуально производили оценку области воздействия ХПА (показаны стрелкой) (рис. 5).

Коленный сустав контрольного животного подвергался аналогичному анализу.

Результаты и обсуждение

МРТ-исследование проводилось на томографе «Aperto» фирмы Hitachi в стандартных условиях и режимах с силой магнитного поля 0,4 Т.



Рис. 4. Операция на экспериментальном животном. Воздействие ХПА на суставной хрящ

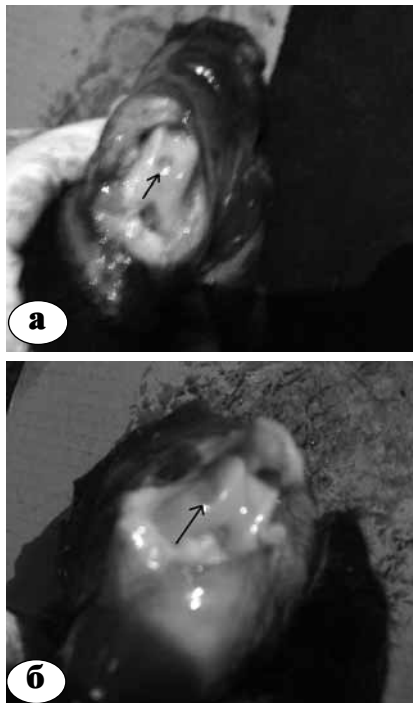


Рис. 5. Внешний вид суставного хряща бедренной кости животного через 3 месяца после воздействия ХПА: а – в режиме резки; б – в режиме коагуляции

На рисунке 6 представлено МРТ-изображение макропрепарата коленного сустава собаки, показанного на рисунке 5 а. Виден дефект суставной поверхности бедренной кости, который имеет чёткие контуры и соответствует внешним визуальным размерам дефекта, наблюдаемым в макропрепарате. Толщина выполняемых срезов на МРТ соответствует 2 мм, что позволяет определить веерообразное распространение поражающего воздействие ХПА вглубь мышечков бедра у экспериментального животного (рис. 7).

В сагиттальной проекции хорошо видно распространение некроза более чем на половину мышечков бедра вследствие воздействия ХПА (рис. 8). На фоне хронического воспаления и синовита в коленном суставе возникает суставная грыжа (киста Бейкера), которая показана стрелкой.

В горизонтальной проекции также видно достаточное глубокое распространение некроза (показано стрелкой) (рис. 9).

На магнитно-резонансных томограммах коленного сустава контрольного животного суставной патологии обнаружено не было.

Результаты применения холодно-плазменной абляции при операциях на суставном хряще вызывают противоречивые мнения исследователей – от восторженных до весьма пессимистических. В мировой литературе в основном встречаются публикации, описывающие клинические наблюдения, которые отличаются по степени своих отдалённых результатов. Однако практически отсутствуют работы, посвящённые лабораторным исследованиям влияния ХПА на суставной хрящ. Результаты, полученные в ходе эксперимента в нашей работе, показали весьма интересные факты, касающиеся воздействия ХПА на суставной хрящ. В первую очередь, это



Рис. 6. МРТ коленного сустава собаки через 3 месяца воздействия ХПА в режиме «резки». Фронтальный срез на уровне передней поверхности бедра

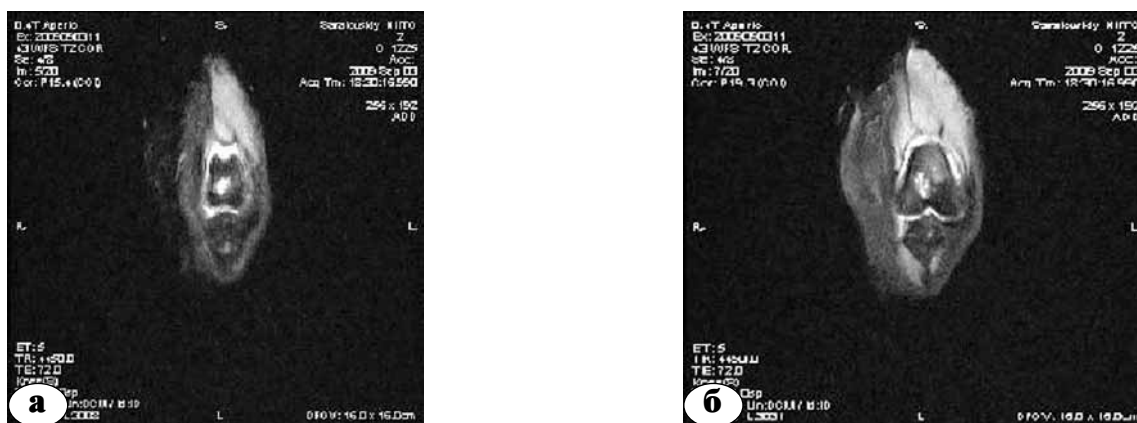


Рис. 7. Распространение очага некроза вглубь мышечков бедра на фронтальных срезах: а – передняя треть бедра; б – средняя треть

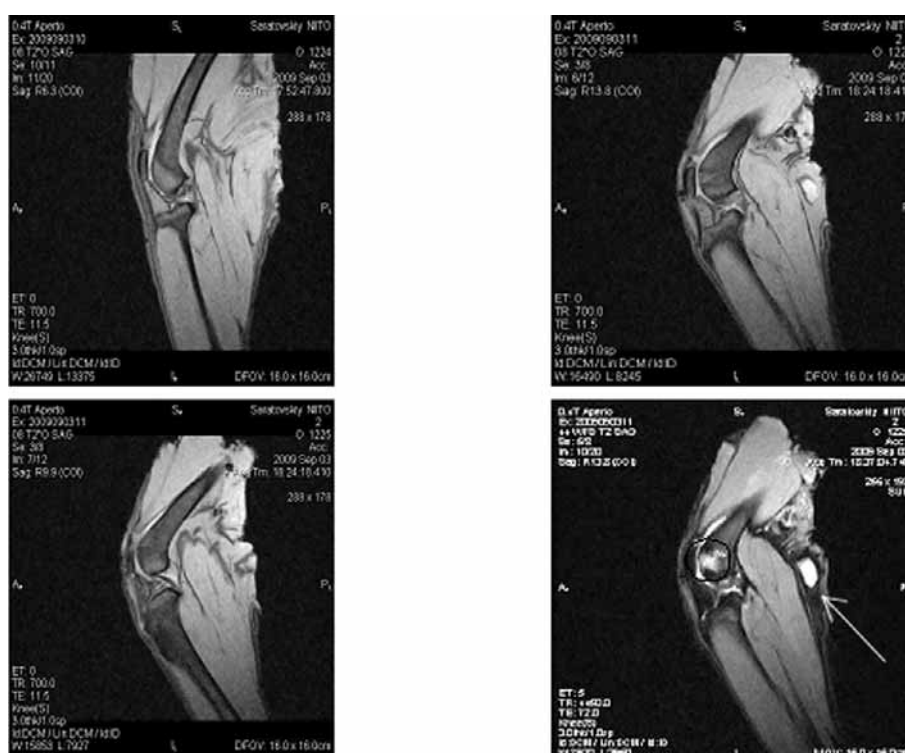


Рис. 8. МРТ (сагиттальная проекция) коленного сустава собаки после воздействия ХПА в режиме резки

глубина поражения суставного хряща. В эксперименте с изолированным суставным хрящом человека глубина поражающего воздействия составляла не более половины толщины суставного хряща и не достигала субхондральной кости. Следует отметить, что в момент выполнения самого воздействия разряда визуально не складывается впечатления о масштабах повреждения. Гистологическая картина очага воздействия также не вызывает опасений и мало чем отличается от близлежащей ткани за исключением небольшой дезорганизации коллагена.

Что касается эксперимента на животных, то

первое что вызывает вопросы – это срок, в который целесообразно выводить животных из эксперимента для анализа результатов. Срок 3 месяца был выбран с учётом того, что он условно соответствует году жизни человека.

Экспериментальные данные на собаках показывают, что состояние животных остаётся удовлетворительным и мало чем отличается от дооперационного. Их физическая активность, аппетит, физиологические функции практически не страдают и не отличаются от таковых у здоровых животных. Однако данные МРТ-исследования свидетельствуют, что животные



Рис. 9. МРТ коленного сустава собаки (горизонтальная проекция). Суставная грыжа (выделена кругом), которая сопоставима по размерам с мышелком бедренной кости

продолжительное время страдали от хронического синовита, который, в конечном итоге, проявился кистой Бейкера. Через три месяца после операции у собак отмечалось наличие избыточного количества синовиальной жидкости в суставе. Все эти явления подтверждались данными МРТ. Тут следует отметить и глубину поражения, которое распространялось практически на 50% мышелка бедра. При этом у контрольного животного не удалось обнаружить явлений синовита либо другой патологии на МРТ.

Выводы

1. Холодно-плазменная абляция способна вызывать уплотнение коллагена в суставном хряще человека *in vitro* сразу после её воздействия.
2. ХПА вызывает гибель клеток суставного хряща у животных *in vivo* через 3 месяца после её одномоментного локального воздействия в течение 1 секунды в режиме резки.
3. Глубина некроза после воздействия ХПА у экспериментального животного значительно превышает пределы субхондральной кости.

Литература

1. Allen, R.T. Meniscal debridement with an arthroscopic radiofrequency wand versus an arthroscopic shaver: comparative effects on menisci and articular cartilage / R.T. Allen [et al.] // *Arthroscopy*. — 2006. — Vol. 22, N 3. — P. 385–393.
2. Bonutti, P.M. Osteonecrosis of the knee after laser or radiofrequency-assisted arthroscopy / P.M. Bonutti [et al.] // *J. Bone Joint Surg.* — 2006. — Vol. 88-A. — P. 69–75.
3. Caffey, S. Effects of radiofrequency energy on human articular cartilage: an analysis of 5 systems / S. Caffey [et al.] // *Am. J. Sports Med.* — 2005. — Vol. 33. — P. 1035–1039.
4. Cook, J.L. Assessment of cellular, biochemical and histological effects of bipolar radiofrequency treatment of canine articular cartilage / J.L. Cook [et al.] // *Am. J. Vet. Res.* — 2004. — Vol. 65. — P. 604–609.
5. Green, L.M. In vitro effects of 3 common arthroscopic instruments on articular cartilage / L.M. Green [et al.] // *Arthroscopy*. — 2006. — Vol. 22, N 3. — P. 300–307.
6. Kaab, M.J. Monopolar radiofrequency treatment of partial-thickness cartilage defects in the sheep knee joint leads to extended cartilage injury / M.J. Kaab [et al.] // *Am. J. Sports Med.* — 2005. — Vol. 33, N 10. — P. 1472–1478.
7. Lu, Y. Thermal chondroplasty with radiofrequency energy. An in vitro comparison of bipolar and monopolar radiofrequency devices / Y. Lu [et al.] // *Am. J. Sports Med.* — 2001. — Vol. 29. — P. 42–49.
8. Lu, Y. Thermal chondroplasty with bipolar and monopolar radiofrequency energy: effect of treatment time on chondrocyte death and surface contouring / Y. Lu [et al.] // *Arthroscopy*. — 2002. — Vol. 18, N 7. — P. 779–788.
9. Perry, J.J. Anterior and posterior cruciate ligament rupture after thermal treatment / J.J. Perry, L.D. Higgins // *Arthroscopy*. — 2000. — Vol. 16. — P. 732–736.
10. Polousky, J.D. Electrosurgical methods for arthroscopic meniscectomy: a review of literature / J.D. Polousky, T.P. Hedman, C.T. Vagness // *Arthroscopy*. — 2000. — Vol. 16. — P. 813–821.
11. Sherk H.H. Electromagnetic surgical devices in orthopedics / H.H. Sherk [et al.] // *J. Bone Joint Surg.* — 2002. — Vol. 84-A. — P. 675–681.
12. Yasura, K. Mechanical and biochemical effect of monopolar radiofrequency energy on human articular cartilage: an in vitro study / K. Yasura [et al.] // *Am. J. Sports Med.* — 2006. — Vol. 34, N 8. — P. 1322–1327.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Богатов Виктор Борисович – к.м.н. старший научный сотрудник отдела новых технологий в ортопедии Саратовского научно-исследовательского института травматологии и ортопедии, доцент кафедры травматологии и ортопедии Саратовского государственного медицинского университета

E-mail: vicbogatov@rambler.ru;

Матвеева Ольга Викторовна – врач отделения лабораторной диагностики Саратовского научно-исследовательского института травматологии и ортопедии;

Петров Алексей Борисович – к.м.н., научный сотрудник отдела новых технологий в травматологии Саратовского научно-исследовательского института травматологии и ортопедии.