Физиология

УДК 616.72-018.3-089-003.93-073.756.8-092.9

ПРИМЕНЕНИЕ КОМПЬЮТЕРНОЙ ТОМОГРАФИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ ПЛОТНОСТИ ТКАНЕВОГО РЕГЕНЕРАТА ПОСЛЕ ХОНДРОПЛАСТИКИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ У КРОЛИКОВ

Котельников Г.П., Долгушкин Д.А., Лазарев В.А., Зельтер П.М.

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации России, Самара

Резюме. Проблема регенерации полнослойных дефектов суставной поверхности остается актуальной в современной регенеративной медицине. Новые способы хондропластики должны быть апробированы в доклинических исследованиях на животных. Полноценный контроль качества новообразованного регенерата зачастую возможен только после выведения животного из эксперимента. Однако дизайн ряда экспериментов требует наблюдения за животным в динамике достаточно длительный срок. Поэтому прижизненная оценка качества формируемого тканевого регенерата после хондропластики представляет интерес. В данной работе представлены результаты применения нового способа оценки качества регенерата в динамике с помощью компьютерной томографии в доклиническом исследовании у кроликов. Способ позволяет выявить степень заполнения дефекта, оценить общую плотность новообразованного регенерата, а также оценить аналогичные параметры новообразованной ткани в области субхондральной кости, промежуточной зоны и хряща. Применение нового способа дает возможность охарактеризовать динамику формирования, перестройки новообразованной ткани регенерата после хондропластики, не выводя животное из экспериментального исследования.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование проводилось без спонсорской поддержки.

Ключевые слова: хондропластика, компьютерная томография, тканевой регенерат.

Для цитирования: Котельников Г.П., Долгушкин Д.А., Лазарев В.А., Зельтер П.М. Применение компьютерной томографии для оценки плотности тканевого регенерата после хондропластики в эксперименте у кроликов // Вестник медицинского института «Реавиз». – 2020. – № 5. – С. 28–35. <https://doi.org/10.20340/vmi-rvz.2020.5.2>

UTILITY OF COMPUTED TOMOGRAPHY FOR THE ASSESSMENT OF TISSUE REGENERATE DENSITY AFTER CHONDROPLASTY IN AN EXPERIMENT WITH RABBITS

Kotelnikov G.P., Dolgushkin D.A., Lazarev V.A., Zel'ter P.M.

Federal State Budgetary Institution of Higher Education 'Samara State Medical University,' Ministry of Health of the Russian Federation, Samara

Abstract. The problem of repair of full-layer defects in the articular surface remains highly relevant. New methods of chondroplasty should be tested in preclinical studies on animals. Full quality control of the newly formed regenerate is often possible only when an animal is euthanized. However, the design of some experiments implies animal observation for a long time. Therefore, lifetime assessment of the quality of the formed tissue regenerate after chondroplasty would be very convenient. We have developed a new method for assessing the quality of regenerate using computed tomography in preclinical studies on rabbits. This method can be used to measure completeness of defect filling, density of the newly formed regenerate, and also to evaluate similar parameters of the newly formed tissue in the area of the subchondral bone, intermediate zone, and cartilage. The new method makes it possible to assess the dynamics of formation and restructuring of newly formed tissue after chondroplasty without euthanizing the animal.

Competing interests. The authors declare no competing interests.

Funding. This research received no external funding.

Key words: chondroplasty, computed tomography, tissue regenerate.

Cite as: Kotelnikov G.P., Dolgushkin D.A., Lazarev V.A., Zelter P.M. Utility of computed tomography for the assessment of tissue regenerate density after chondroplasty in an experiment with rabbits // Bulletin of Medical University Reaviz. – 2020. – № 5. – P. 28–35. <https://doi.org/10.20340/vmi-rvz.2020.5.2>

Введение

Полнослойные дефекты суставной поверхности костей, образующих крупные суставы, представляют собой основную причину прогрессирования деструктивно-дистрофических заболеваний у пациентов. Полноценное гистотопографическое восстановление этих дефектов представляет сложную задачу современной травматологии и ортопедии и, безусловно, регенеративной медицины [1]. Существует большой арсенал способов пластики дефектов суставной поверхности, включающий микрофрактурирование, реваскуляризирующую остеоперфорацию субхондральной кости, мозаичную аутохондропластику, применение комбинированных аллогенных материалов, в том числе с использованием клеточных технологий и другие [2]. Такое разнообразие методик демонстрирует то, что результаты восполнения полнослойных костно-хрящевых дефектов часто не являются удовлетворительными.

Для восстановления дефекта суставной поверхности безусловно имеет значение качество как новообразованной субхондральной кости, так и гиалинового или гиалиноподобного хряща. Наличие полостей в субхондральной кости, снижение плотности костных балок, нарушение физических характеристик новообразованного хряща – все это приводит к недолговечности эффекта пластики, прогрессирующему разрушению регенерата и формированию нового дефекта суставной поверхности [2, 3].

К диагностическим методам, которые применяют в динамике для оценки эффективности хондропластики у человека, относятся компьютерная и магнитно-резонансная томография. Однако литературные данные по использованию этих методов в доклинических экспериментальных исследованиях у животных разнородны и противоречивы. Чаще всего оценку качества регенератов после хондропластики осуществляют, выполняя морфологические

исследования после выведения животного из эксперимента [3]. Тем не менее, в ряде случаев дизайн исследования требует прижизненного контроля, динамического наблюдения за животным, сохранения его жизни по завершению эксперимента [3, 4]. Поэтому разработка новых способов применения методов лучевой диагностики для оценки качества тканевых регенератов после хондропластики у животных в динамике является актуальной.

Цель исследования: оценить в динамике качество новообразованных регенератов после хондропластики у кроликов с помощью компьютерной томографии в доклиническом исследовании.

Материалы и методы исследования

В Институте экспериментальной медицины и биотехнологий СамГМУ нами выполнено доклиническое экспериментальное исследование на кроликах по оценке эффективности применения обогащенной тромбоцитами аутоплазмы для хондропластики дефектов суставной поверхности. Эксперименты проводили в рамках международных рекомендаций по проведению медико-биологических исследований с использованием животных при одобрении биоэтического комитета СамГМУ.

Объектом исследования стали 30 разнополых кроликов породы «Шиншилла» массой 3–4 кг, возрастом 5–7 месяцев. Перед операцией после седации у животного выполняли забор цельной крови из ушной вены. После чего в соответствии с разработанным протоколом Стандартом операционной процедуры «СОП ИЭМБ-МОРФ 11» от 2.06.2017 года начинали получение обогащенной и обедненной тромбоцитами аутоплазмы.

Операцию животным выполняли следующим образом. Под наркозом после обработки операционного поля растворами антисептиков выполняли дуговой парапателлярный разрез, артротомию коленного сустава. Надколенник вывихивали кнаружи.

С помощью зубоорачебного бора при малых оборотах формировали два цилиндрических дефекта диаметром 2,5 мм и глубиной 5 мм на надколенниковой поверхности бедренной кости. После промывания раны физиологическим раствором выполняли пластику дефектов, либо, не замещая их, сразу послойно ушивали рану. В послеоперационном периоде конечность кролика не иммобилизовали. Содержали животных в стандартных условиях вивария при свободном доступе к корму и воде. Проводили обезболивающую и антибиотикотерапию путем внутримышечных инъекций длительностью не более трех дней. Операции выполняли на каждом коленном суставе животного, с интервалом после предыдущей артротомии не менее 1 месяца, при обязательном восстановлении полной опороспособности и функции уже прооперированной задней конечности.

Животные были разделены на три группы по 10 кроликов в каждой (по 20 суставов). В контрольной группе пластику дефектов кроликам не выполняли. В первой опытной группе дефекты замещали полученной аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмой (ОТП). Во второй опытной группе дефекты заполняли кроличьей деминерализованной спонгиозной костью, полученной по методике «Лиопласт®» Самарского банка тканей из головок бедренных костей молодых кроликов. Дефекты заполняли строго до уровня интактной суставной поверхности. При этом костный материал старались разместить максимально плотно. После контакта ОТП с восприимающим ложем дефекта и его заполнением она приобретала достаточно плотную консистенцию – не вытекала и не смещалась после вправления надколенника.

В динамике после выполнения хондропластики через 2 недели, 1, 2 и 3 месяца обследовали животных, выполняя их осмотр, используя функциональные, биохимические методы исследования. Применяли методы лучевой диагностики, в частности проводили компьютерную томогра-

фию коленного сустава животного на аппарате Toshiba Aquilion 32 (Япония). Нами разработан новый способ оценки качества новообразованных регенератов после хондропластики у кроликов (Патент РФ на изобретение № 2727002 от 17.07.2020) [5].

В динамике животным выполняли компьютерную томографию задней конечности, получая тонкие срезы до 0,5 мм с перекрытием с получением двух серий изображений с высоким и низким керенелом для оценки костных и мягкотканых структур. Осуществляли построение 3D модели области коленного сустава. Проводили виртуальную резекцию надколенника в режиме Volume rendering, получая обзор суставной надколенниковой поверхности бедренной кости (рис. 1). Предварительно судили о восполнении дефекта регенератом относительно интактной суставной поверхности. После этого в костном окне пересформировали стандартные плоскости,

получая косокорональную и косоаксиальную плоскости таким образом, чтобы каналы заполненных регенератами дефектов располагались параллельно косоаксиальной и перпендикулярно косокорональной плоскости.

В косоаксиальной плоскости анализировали уровень заполнения объема первоначальных дефектов регенератами и их качество (рис. 2, а). Подсчитывали общую среднюю плотность новообразованной ткани в единицах Хаунсфилда (HU) – с помощью полигональной зоны интереса, ограничивающей всю площадь регенерата (рис. 2, б). Затем отдельно выполняли аналогичные действия, выделяя зоны интереса тремя окружностями диаметром 1 мм в верхнем, среднем и нижнем уровнях, соответствующих областям субхондральной кости, хряща и промежуточной зоне регенерата (рис. 2, в).

Рис. 1. Компьютерная томограмма интактного коленного сустава кролика и сустава после выполнения хондропластики (хорошо визуализируются два круглых дефекта на надколенниковой поверхности бедренной кости)

Рис. 2. Компьютерные томограммы коленного сустава кроликов в косоаксиальных проекциях: А – визуальная оценка замещения дефекта, измерение глубины дефекта; Б – выделение полигональной фигурой границ первоначального дефекта с подсчетом общей средней плотности новообразованной ткани; В – выделение окружностью зоны субхондральной кости регенерата с подсчетом средней плотности новообразованной ткани

Результаты и их обсуждение

Оценку качества формирующихся в области дефектов после хондропластики регенератов проводили в ранние сроки – через 2 недели и 1 месяц после операции, и на поздних сроках – через 2 и 3 месяца после нее.

При визуальной оценке надколенниковой поверхности бедренной кости после построения 3D модели зоны интереса и виртуальной резекции надколенника в режиме Volume rendering было обнаружено, что на ранних сроках в группах без выполнения пластики и с пластикой дефектов костным материалом ни в одном случае формирующиеся регенераты не достигали уровня интактной суставной поверхности. Края дефектов были узурированы, поверхность регенератов была неровной, бугристой. В отличие от группы животных с пластикой ОТП, у 2/3 которых регенерат восполнял дефект целиком. Поверхность регенерата была гладкой с плавным переходом в интактный гиалиновый хрящ. В трех случаях наблюдали эффект «+ ткань», когда регенерат возвышался над зоной интактного хряща. Однако при оценке как общей плотности новообразованного регенерата,

так и его отдельных зон было обнаружено следующее (табл. 1).

У животных без выполнения пластики и с пластикой дефектов ОТП через 2 недели средняя общая плотность регенератов была крайне низкой ($-318 \pm 5,6$ HU и $-168 \pm 3,3$ HU соответственно), несравнимой с аналогичными зонами интактного гиалинового хряща, переходной зоны и субхондральной кости. При этом средняя общая плотность формирующегося регенерата после пластики костным материалом на этом сроке была существенно выше и имела положительное значение $26 \pm 2,2$ HU. Однако через 1 месяц наблюдений в этой группе животных, напротив, отметили резкое снижение плотности как всего регенерата ($-112 \pm 4,6$ HU), так и его отдельных зон. Мы связываем это с постепенной резорбцией и перестройкой костного материала в эти сроки.

В группе животных с пластикой дефектов ОТП через 1 месяц отмечали постепенное увеличение плотности формирующихся регенерата, особенно в зоне субхондральной кости ($107 \pm 1,6$ HU). В промежуточной зоне и на уровне интактного гиалинового хряща также отмечали положительные зна-

чения, однако они продолжали сильно разниться с показателями интактных тканей вблизи дефекта. В группе животных, пластику дефектов которым не выполняли, начиналось его постепенное замещение из глубины. При этом плотность новообразованной за счет собственных резервов ткани регенерата в зоне субхондральной кости имела положительное значение $97 \pm 6,6$ HU, близкое к таковому после пластики дефекта ОТП.

На поздних сроках наблюдения при визуальной оценке надколенниковой поверхности бедренной кости после построения 3D модели зоны интереса и виртуальной резекции надколенника в режиме Volume rendering в группах животных после пластики ОТП все дефекты были восполнены. Уровень регенератов не достигал уровня интактной суставной поверхности в группе животных без выполнения пластики и в единичных случаях после пластики костным материалом. Результаты оценки средней

плотности ткани новообразованных регенератов и их отдельных зон в поздние сроки после выполнения хондропластики представлены в табл. 2.

Стоит отметить прогрессивное увеличение плотности новообразованной субхондральной кости во всех трех группах. При этом в группе животных, которым выполняли пластику дефектов костным материалом, наблюдали избыточное повышение плотности новообразованной ткани регенерата как в промежуточной зоне, так и на уровне интактного гиалинового хряща, особенно к 3 месяцу ($516 \pm 3,6$ HU и $387 \pm 5,4$ HU) по сравнению с аналогичными интактными зонами. Это косвенно свидетельствует о формировании у животных этой группы костно-фиброзных регенератов с преобладанием костного компонента. На уровне интактного гиалинового хряща и в промежуточной зоне в регенератах этой группы нередко наблюдали перестройку с образованием кист.

Таблица 1. Результаты оценки средней плотности ткани новообразованных регенератов и их отдельных зон в ранние сроки после выполнения хондропластики

Срок	Тип пластики	Плотность ткани всей площади регенерата, HU	Плотность ткани в в/3 регенерата, HU	Плотность ткани в с/3 регенерата, HU	Плотность ткани в н/3 регенерата HU
2 недели	без пластики	$-318 \pm 5,6$	$-487 \pm 1,2$	$-287 \pm 1,7$	$-187 \pm 5,4$
	костный материал	$26 \pm 2,2$	$-15 \pm 2,3$	$56 \pm 5,7$	$38 \pm 1,1$
	ОТП	$-168 \pm 3,3$	$-286 \pm 5,4$	$-130 \pm 2,6$	$-187 \pm 6,7$
1 месяц	без пластики	$-35 \pm 5,9$	$-117 \pm 7,8$	$-87 \pm 4,4$	$97 \pm 6,6$
	костный материал	$-112 \pm 4,6$	$-187 \pm 5,6$	$-167 \pm 5,6$	$17 \pm 5,6$
	ОТП	$68 \pm 7,6$	$17 \pm 5,4$	$81 \pm 1,4$	$107 \pm 1,6$

Таблица 2. Результаты оценки средней плотности ткани новообразованных регенератов и их отдельных зон в поздние сроки после выполнения хондропластики

Срок	Тип пластики	Плотность ткани всей площади регенерата, HU	Плотность ткани в в/3 регенерата, HU	Плотность ткани в с/3 регенерата, HU	Плотность ткани в н/3 регенерата, HU
2 месяца	без пластики	$221 \pm 5,6$	$98 \pm 1,2$	$227 \pm 1,7$	$337 \pm 5,4$
	костный материал	$403 \pm 2,2$	$215 \pm 2,3$	$456 \pm 5,7$	$538 \pm 1,1$
	ОТП	$343 \pm 3,3$	$112 \pm 5,4$	$330 \pm 2,6$	$587 \pm 6,7$
3 месяца	без пластики	$269 \pm 5,9$	$113 \pm 7,8$	$198 \pm 4,4$	$497 \pm 6,6$
	костный материал	$501 \pm 4,6$	$387 \pm 5,4$	$516 \pm 3,6$	$597 \pm 2,7$
	ОТП	$383 \pm 7,6$	$183 \pm 5,4$	$387 \pm 1,4$	$581 \pm 1,6$

У кроликов без выполнения пластики плотность регенератов за исключением зоны субхондральной кости оставалась достаточно низкой, что косвенно свидетельствовало о замещении дефекта преимущественно фиброзной тканью. У животных с пластикой дефектов ОТП к 3 месяцу показатели плотностей зон интереса регенерата становились сравнимыми с аналогичными показателями интактных зон. Патологической перестройки в регенератах у этой группы животных мы не наблюдали.

Таким образом, предложенный способ оценки новообразованных регенератов после хондропластики может быть применен в доклинических исследованиях у животных

в качестве прижизненной оценки качества формирующихся тканевых регенератов в динамике. В том числе для возможности прогнозирования эффективности хондропластики на ранних сроках обнаружения животных с заведомо неудовлетворительными результатами операции. Безусловно, этот способ имеет недостатки и не может в полной мере заменить морфологическое исследование, с результатами которого мы планируем в дальнейшем сопоставить полученные данные. В то же время способ может быть рекомендован для доклинических исследований, дизайн которых не предполагает выведение животного из эксперимента.

Литература / References

- 1 Ulstein S, Aroen A, Rotterud JH, LØken S, Engebretsen L, Heir S. 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 Traumatol Arthrosc.* 2014;22(6):1207-15. <https://doi.org/10.1007/s00167-014-2843-6>
- 2 Airapetov G.A., Zagorodniy N.V., Vorotnikov A.A. Experimental method replacement of the osteo-chondral defects of the large joints (first results). *Medical Herald of the South of Russia.* 2019;10(2):71-76. (In Russ.) <https://doi.org/10.21886/22198075-2019-10-2-71-76>
- 3 Yong-tao Zhang. Repair of Osteochondral Defects in a Rabbit Model Using Bilayer Poly (Lactide – co – Glycolide) Scaffolds Loaded with Autologous Platelet – Rich Plasma / Jing Niu, Zhau Wang, Song Liu, Jianqun Wu, Bin Yu// *Medical Science Monitor.* – 2017. – Vol. 23. – P. 5189–5201.
- 4 Shiqiang Ruan. Evaluation of the Effects of the combination of BMP – 2 – modified BMSCs and PRP on cartilage defects / Jiang Yan, Wenliang Huang// *Experimental and therapeutic medicine.* – 2018. – Vol. 16. – P. 4569–4577.
- 5 Patent № 2727002 Российская Федерация, МПК А61N 5/10, (2006.01), G 09B 23/28. Способ оценки качества новообразованных регенератов после хондропластики у кроликов / Котел'ников Г.Р., Долгушкин Д.А., Зельтер П. М., Лазарев В.А. № 2019145635: заявл. 30.12.2019: опubl. 17. 07. 2020.

Авторская справка

- Котельников Геннадий Петрович** доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заведующий кафедрой травматологии, ортопедии и экстремальной хирургии им. акад. А.Ф. Краснова, Президент Самарского государственного медицинского университета, Самара, Россия
ORCID 0000-0003-2418-2227
- Лазарев Владимир Анатольевич** старший лаборант кафедры травматологии, ортопедии и экстремальной хирургии им. акад. А.Ф. Краснова, Самарский государственный медицинский университет, Самара, Россия
ORCID 0000-0002-0106-8918
- Долгушкин Дмитрий Александрович** кандидат медицинских наук, доцент кафедры травматологии, ортопедии и экстремальной хирургии им. акад. А.Ф. Краснова, Самарский государственный медицинский университет, Самара, Россия
тел.: 8 927 601-60-55, e-mail: dodipesa@yandex.ru
ORCID 0000-0003-3681-5044
- Зельтер Павел Михайлович** кандидат медицинских наук, доцент, кафедра лучевой диагностики и лучевой терапии, Самарский государственный медицинский университет, Самара, Россия
ORCID 0000-0003-1346-5942

Статья поступила 13.09.2020
Одобрена после рецензирования 29.09.2020
Принята в печать 14.10.2020

Received September, 13th 2020
Approved after reviewing September, 29th 2020
Accepted for publication October, 14th 2020