

ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПОВРЕЖДЕННОГО МЕНИСКА КОЛЕННОГО СУСТАВА

Брителько А. А., Лис Р. Е., Кузмицкий Н. И., Богданович И. П., Аносов В. С.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Введение. Посттравматические изменения и регенераторный потенциал ткани находятся в прямой зависимости. В современной литературе изменения мениска коленного сустава у пациентов после травмы изучены недостаточно.

Цель. Оценить поврежденный мениск в разные сроки после травмы.

Материал и методы. Оценены препараты 28 менисков до 4 месяцев после травмы и 34 менисков – свыше 4 месяцев с момента травмы. Образцы ткани менисков оценены методикой Rodeo S. A.

Результаты. В группе пациентов с застарелой травмой выявили статистически значимое снижение плотности одиночных клеток, а также снижение качества ткани межклеточного вещества.

Выводы. В поврежденной части мениска резко снижается клеточная плотность. Структура ткани мениска после 4 месяцев от травмы резко нарушается, что может приводить к несостоятельности шва мениска.

Ключевые слова: мениск коленного сустава, клеток плотность.

Введение

Частота разрывов менисков составляет 61 случай на 100 000 населения в год. Основной метод лечения – хирургический. Ежегодно в мире выполняется около 4 миллионов артроскопических вмешательств в связи с травмой менисков [1]. Известно, что удаление части мениска ведет к развитию раннего гонартроза у 60% людей [2]. В настоящее время более перспективным методом у пациентов моложе 40 лет является артроскопическая рефиксация поврежденной части. Однако частота несостоятельности шва составляет от 5 до 43,5% [3].

Существует мнение, что наличие жизнеспособных клеток в поврежденном фрагменте мениска определяет потенциал регенерации, которая, возможно, происходит (в том числе) путем интерстициального роста [4]. Характерно, что в большинстве клинических работ авторы не принимают во внимание время от момента получения травмы до дня операции [5, 6].

Цель исследования – оценить изменения поврежденной части мениска коленного сустава в разные сроки с момента травмы.

Материал и методы

Для патогистологического анализа при соблюдении принципов биоэтики на основании информированного согласия были отобраны образцы 62 менисков коленного сустава, которые удалены артроскопически «единым блоком» у пациентов в возрасте от 18 до 44 лет. Во всех случаях имел место продольный трансхондральный нестабильный разрыв в области тела и заднего рога внутреннего мениска, проходящий во 2-й зоне по Cooper D. E. [7].

Пациенты были разделены на две группы: 1-я – с давностью травмы до 4 месяцев и менее (среднее – 28 дней), 2-я – от 4 месяцев до 1 года (среднее – 243 дня). Характеристика групп пациентов представлена в таблице 1.

Плотность распределения клеток на гистологическом препарате мениска определяли с помощью компьютерного анализатора изображений

Таблица 1. – Характеристика групп пациентов
Table 1. – Characteristics of groups of the patients

	Свежий разрыв мениска	Застарелый разрыв мениска
Количество пациентов	28	34
Возраст, М (СО)	28 (7)	29 (6)
Мужчины/женщины	26:2	29:5
Время с момента травмы, дней, М (СО)	28 (29)	243 (117)

BIOSCAN-NT после предварительной разметки препарата на биссектрисе угла, образованного касательной к суставным краям мениска, в трех точках на расстоянии 3, 7 и 10 мм от центральной вершины образца (рис. 1).

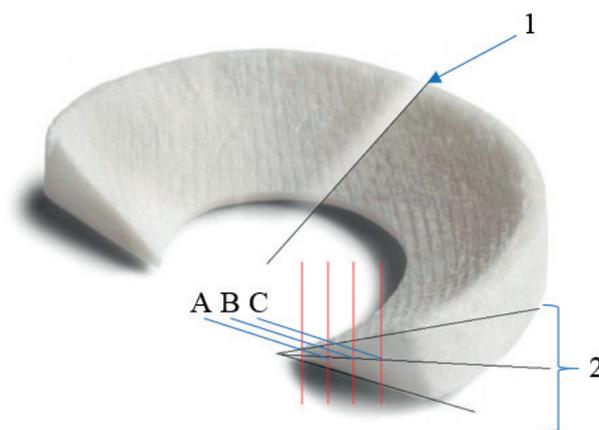


Рисунок 1. – Схема анализа образца мениска:
1 – направление среза, **2** – схема разметки препарата:
A – первая, **B** – вторая, **C** – третья точки анализа препарата

Figure 1. – Scheme of the meniscus sample analysis: **1** – direction of the slice, **2** – marking scheme: **A** – first, **B** – second, **C** – third point of the analysis of the sample

Каждый препарат мениска оценивался по шестибальной шкале, предложенной Rodeo S. A. и соавт. [8]. На площади 1 мм² определяли плотность клеточного состава и тип клеток, принимали во внимание организацию коллагена и морфологию матрикса (табл. 2).

Примеры микрофотографий образцов полученных препаратов представлены на рисунках 2 и 3.

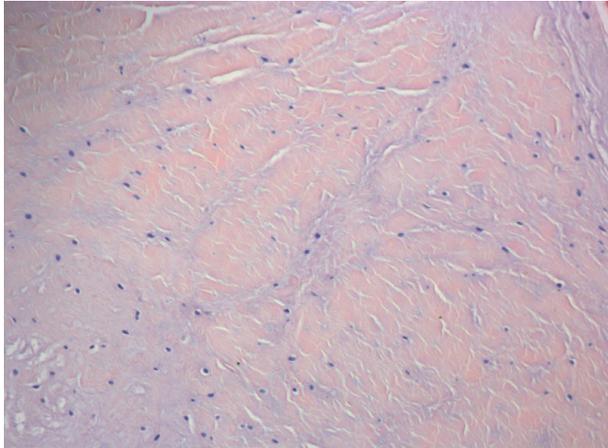


Рисунок 2. – Микрофотография ткани мениска, 5 баллов по шкале Rodeo S. A.

(окр. гематоксилин-эозин, ув.×40)

Figure 2. – Meniscal microphotograph, 5 points in according to the Rodeo S.A. scale. (hematoxylin-eosin, ×40)

Статистическая обработка данных была реализована стандартными средствами MS Excel. Уровнем статистической значимости принято $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Оценены результаты гистологического анализа препаратов менисков коленного сустава двух групп пациентов, не связанных между собой: 1-я группа – плотность одиночных и парных клеток на 1 мм² у пациентов со свежей травмой, 2-я группа – плотность одиночных и парных клеток на 1 мм² у пациентов с застарелым повреждением.

Проверена нормальность распределения полученных данных на основании свойств асимметрии и эксцесса – в обеих группах данные распределены нормально. Поскольку имеют место нормально распределенные количественные данные, для определения статистической значимости результатов использован параметриче-

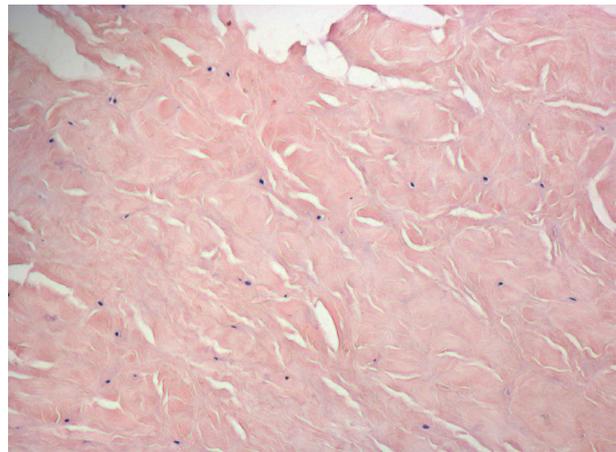


Рисунок 3. – Микрофотография ткани мениска пациента с застарелой травмой, 2 балла по шкале Rodeo S. A. (окр. гематоксилин-эозин, ув.×40)

Figure 3. – Meniscal microphotograph in patient with a chronic injury, 2 points in according to the Rodeo S.A. scale (hematoxylin-eosin, ×40)

ский метод, в данном случае – t-критерий Стьюдента для независимых выборок. При сравнении между собой данных плотности одиночных клеток различия признаны статистически значимыми ($p=0,028$).

Аналогично провели оценку результатов плотности парных клеток на 1 мм² у пациентов со свежей и застарелой травмами; различия между выборками признаются статистически незначимыми ($p=0,59$).

Графики сравнений представлены на рисунке 4.

При изучении нормальности распределения результатов, полученных по шкале Rodeo S. A., пользуясь свойствами асимметрии и эксцесса, пришли к выводу, что в обеих группах пациентов данные распределены ненормально.

Медиана в 1-й группе пациентов с давностью травмы менее 4 месяцев составляла 4 [95% ДИ 4; 5], во 2-й группе – 3 [95% ДИ 3; 4].

Для определения статистической значимости результатов использовали непараметрический метод, в данном случае – U-критерий Манна-Уитни, согласно которому различия между группами признаны статистически значимыми. Полученное эмпирическое значение $U_{эмп}$ (174,5) находится в зоне значимости ($p \leq 0,05$).

В связи с большим количеством функций менисков необходим поиск путей их хирургиче-

Таблица 2. – Шкала Rodeo S. A. и соавт. для оценки препарата ткани мениска коленного сустава
Table 2. – Rodeo scale for the meniscus evaluation

Баллы	Плотность клеток на 1 мм ²	Доминирующий клеточный тип	Организация коллагена	Организация матрикса
0	Меньше 50	Мононуклеарные клетки	Дезорганизованный	Хондромукоидная дегенерация
1	50-300	Фибробласты	Организованный	Фиброзная ткань
2	Больше 300	Фиброхондроциты		

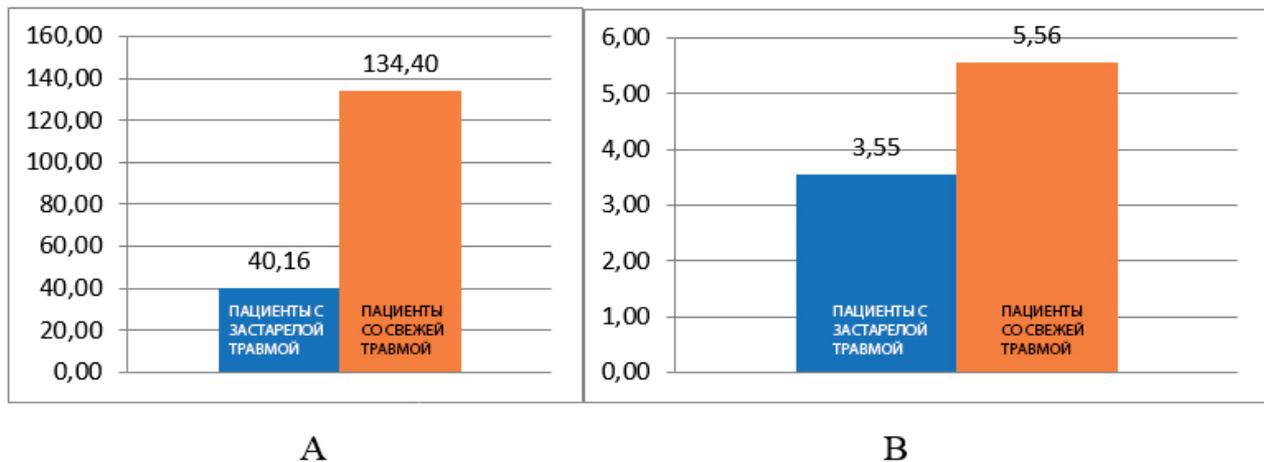


Рисунок 4. – Сравнительная оценка средней плотности одиночных (А) и парных (В) клеток на 1 мм² у пациентов со свежей и застарелой травмами

Figure 4. – Average density comparison of single (A) and paired cells (B) per 1 mm² in patients with fresh vs chronic injury

ческого восстановления после травмы. Частота повторных разрывов после шва тем выше, чем дальше от капсулы сустава локализуется зона разрыва [9]. Эти результаты можно объяснить резким уменьшением количества клеток от периферии к центру, плотность которых, согласно данным Cengiz I. F. и соавт., уменьшается в 3 раза [10]. В то же время Verdonk P. C. M. и соавт. установили, что не все клетки ткани мениска являются однородными по своему фенотипу. Ученые описывают 4 типа клеток на основании иммуногистохимического анализа микропрепаратов: фиброхондроциты; фибробластоподобные клетки; клетки поверхностного слоя; клетки со средним фенотипом между фиброхондроцитами и фибробластоподобными клетками [11].

Термин «фиброхондроцит» введен в англоязычную литературу Weber и соавт. в 1985 г. для описания клеточных элементов мениска, которые синтезируют коллаген преимущественно I типа. Фибробластоподобные клетки – вытянутой или веретенообразной формы, с малым количеством цитоплазмы, вырабатывают преимущественно коллаген II типа. Клетки поверхностного слоя – веретенообразной формы с очень узким ободком цитоплазмы, считается, что эти клетки являются прогениторными [12-14].

Полученные сведения в корне изменяют органосохраняющую стратегию лечения пациентов, т. к. все предыдущие исследования по улучшению регенерации мениска коленного сустава были направлены на создание путей кровоснабжения или внедрение фибринового сгустка в зону разрыва: освежение краев дефекта мениска с помощью шейвера или рашпиля, нанесение поверхностных повреждений синовиальной оболочки, трепанация мениска и т. д. [15].

Однако несмотря на достижения клеточной и тканевой инженерии, сохраняется ряд нерешенных проблем: необходимость двух оперативных вмешательств (для получения и выращивания образцов клеток и их имплантации), при этом метод удержания клеток в зоне разрыва также

несовершенен (технология мембран, коллагеновых матриц и т. д.), равно как и неустойчив фенотип фиброхондроцитов в клеточных культурах, кроме того, в большинстве случаев наступает избыточная продукция ими коллагена, а сама технология требует значительных финансовых затрат [16-20].

Настоящее исследование мы не считаем совершенным. Недостатки связаны с относительно малой выборкой, в которой имеется достаточно большой разброс от среднего значения времени с момента травмы (СО), определена лишь 2D клеточная плотность ткани на ограниченных участках, не проводилось иммуногистохимическое типирование клеточных элементов, а, соответственно, мы не можем предположить, насколько уменьшается количество вероятных прогениторных клеток. Будущее научного поиска видится в проведении данных исследований, а также необходимости дополнительных экспериментов с применением доступных методов оптимизации регенерации, которые могут оказывать влияние на стимуляцию выработки коллагена парными фиброхондроцитами, количество которых, согласно нашим данным, с течением времени не меняется.

Выводы

1. С течением времени в поврежденной части мениска резко снижается клеточная плотность. При этом в последнюю очередь уменьшается количество парных клеток.

2. Парные клетки могут быть источником регенерации в случае сохранения их жизнеспособности при условии применения методов стимуляции регенерации (например, плазмы, обогащенной тромбоцитами, технологии клеточных мембран и т. д.)

3. Клеточный состав поврежденной ткани мениска после 4-х месяцев от травмы резко изменяется и риск развития несостоятельности шва мениска значительно возрастает.

Литература

1. Knee pain and mobility impairments: meniscal and articular lesions / D. S. Logerstedt [et al.] // *Journal of orthopaedic and sports physical therapy*. – 2010. – Vol. 40, iss. 6. – P. A1-A35. – doi: 10.2519/jospt.2010.0304.
2. Long-term outcome after arthroscopic meniscal repair versus arthroscopic partial meniscectomy for traumatic meniscal tears / T. Stein [et al.] // *The American Journal of Sports Medicine*. – 2010. – Vol. 38, iss. 8. – P. 1542-1548. – doi: 10.1177/0363546510364052.
3. Lozano, J. All-inside meniscus repair: a systematic review / J. Lozano, C. B. Ma, W. D. Cannon // *Clinical Orthopaedics and Related Research*. – 2007. – Vol. 455. – P. 134-141. – doi: 10.1097/blo.0b013e31802ff806.
4. Myers, K. Interstitial growth and remodeling of biological tissues: tissue composition as state variables / K. Myers, G. A. Ateshian // *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. – 2014. – Vol. 29. – P. 544-556. – doi: 10.1016/j.jmbbm.2013.03.003.
5. Noyes, F. R. Arthroscopic repair of meniscus tears extending into the avascular zone with or without anterior cruciate ligament reconstruction in patients 40 years of age and older / F. R. Noyes, S. D. Barber-Westin // *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery*. – 2000. – Vol. 16, iss. 8. – P. 822-829. – doi: 10.1053/jars.2000.19434.
6. Pathologic characteristics of the torn human meniscus / M. Mesiha [et al.] // *The American Journal of Sports Medicine*. – 2007. – Vol. 35, iss. 1. – P. 103-112. – doi: 10.1177/0363546506293700.
7. Cooper, D. E. Arthroscopic meniscal repair / D. E. Cooper, S. P. Arnoczky, R. F. Warren // *Clin. Sports Med.* – 1990. – Vol. 9, iss. 3. – P. 589-607.
8. Histological analysis of human meniscal allografts: a preliminary report / S. A. Rodeo [et al.] // *The Journal of Bone and Joint Surgery*. – 2000. – Vol. 82A, iss. 8. – P. 1071-1082. – doi: 10.2106/00004623-200008000-00002.
9. Vaquero, J. Meniscus tear surgery and meniscus replacement / J. Vaquero, F. Forriol // *Muscles, Ligaments and Tendons Journal*. – 2016. – Vol. 6, iss. 1. – P. 71-89. – doi: 10.11138/mltj/2016.6.1.071.
10. Segmental and regional quantification of 3D cellular density of human meniscus from osteoarthritic knee / I. F. Cengiz [et al.] // *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. – 2017. – Vol. 11, iss. 6. – P. 1844-1852. – doi: 10.1002/term.2082.
11. Characterisation of human knee meniscus cell phenotype / P. C. Verdonk [et al.] // *Osteoarthritis and Cartilage*. – 2005. – Vol. 13, iss. 7. – P. 548-560. – doi: 10.1016/j.joca.2005.01.010.
12. Endothelial precursor cells in the synovial tissue of patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis / B. Rüger [et al.] // *Arthritis and Rheumatism*. – 2004. – Vol. 50, iss. 7. – P. 2157-2166. – doi: 10.1002/art.20506.
13. The use of blood vessel-derived stem cells for meniscal regeneration and repair / A. Osawa [et al.] // *Medicine and Science in Sports and Exercise*. – 2013. – Vol. 45, iss. 5. – P. 813-823. – doi: 10.1249/mss.0b013e31827d1e06.
14. Locally applied angiogenic factors – a new therapeutic tool for meniscal repair / W. Petersen [et al.] // *Annals of Anatomy*. – 2005. – Vol. 187, № 5-6. – P. 509-519. – doi: 10.1016/j.aanat.2005.04.010.
15. Бритько, А. А. Пути улучшения результатов лечения пациентов с разрывами менисков коленного сустава / А. А. Бритько, И. П. Богданович, В. С. Аносов // *Медицинские новости*. – 2012. – № 12. – С. 22-26.
16. Gunja, N. J. Passage and reversal effects on gene expression of bovine meniscal fibrochondrocytes / N. J. Gunja, K. A. Athanasiou // *Arthritis Research and Therapy*. – 2007. – Vol. 9, № 5. – P. R93. – doi: 10.1186/ar2293.
17. Вагапова, В. Ш. Функциональная морфология коленного сустава / В. Ш. Вагапова // *Медицинский вестник Башкортостана*. – 2007. – № 5. – С. 69-74.
18. Киселевский, Ю. М. Структурно-функциональные особенности коленного сустава / Ю. М. Киселевский, А. В. Иванцов // *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. – 2008. – № 1. – С. 109-112.
19. Histological features of meniscal injury / V. Senan [et al.] // *Kerala Journal of Orthopaedics*. – 2011. – Vol. 24, № 1. – P. 30-36.
20. Богатов, В. Б. Гистоморфологические изменения в поврежденных менисках у детей / В. Б. Богатов, В. Н. Белоногов, О. В. Матвеева // *Травматология и ортопедия России*. – 2010. – № 4. – С. 30-36.

References

1. Logerstedt DS, Snyder-Mackler L, Ritter RC, Axe MJ, Godges J. Knee pain and mobility impairments: meniscal and articular lesions. *Journal of orthopaedic and sports physical therapy*. 2010;40(6):A1-A35. doi: 10.2519/jospt.2010.0304.
2. Stein T, Mehling AP, Welsch F, von Eisenhart-Rothe R, Jäger A. Long-term outcome after arthroscopic meniscal repair versus arthroscopic partial meniscectomy for traumatic meniscal tears. *The American Journal of Sports Medicine*. 2010;38(8):1542-1548. doi: 10.1177/0363546510364052.
3. Lozano J, Ma CB, Cannon WD. All-inside meniscus repair: a systematic review. *Clinical Orthopaedics and Related Research*. 2007;455:134-141. doi: 10.1097/blo.0b013e31802ff806.
4. Myers K, Ateshian GA. Interstitial growth and remodeling of biological tissues: tissue composition as state variables. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2014;29:544-556. doi: 10.1016/j.jmbbm.2013.03.003.
5. Noyes FR, Barber-Westin SD. Arthroscopic repair of meniscus tears extending into the avascular zone with or without anterior cruciate ligament reconstruction in patients 40 years of age and older. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic and Related Surgery*. 2000;16(8):822-829. doi: 10.1053/jars.2000.19434.
6. Mesiha M, Zurakowski D, Soriano J, Nielson JH, Zarins B, Murray MM. Pathologic characteristics of the torn human meniscus. *The American Journal of Sports Medicine*. 2007;35(1):103-112. doi: 10.1177/0363546506293700.
7. Cooper DE, Arnoczky SP, Warren RF. Arthroscopic meniscal repair. *Clin. Sports Med*. 1990;9(3):589-607.
8. Rodeo SA, Seneveratne A, Suzuki K, Felker K, Wickiewicz TL, Warren RF. Histological analysis of human meniscal allografts: a preliminary report. *The Journal of Bone and Joint Surgery*. 2000;82A(8):1071-1082. doi: 10.2106/00004623-200008000-00002.
9. Vaquero J, Forriol F. Meniscus tear surgery and meniscus replacement. *Muscles, Ligaments and Tendons Journal*. 2016;6(1):71-89. doi: 10.11138/mltj/2016.6.1.071.
10. Cengiz IF, Pereira H, Sousa N, Espregueira-Mendes J, Oliveira JM, Reis RL. Segmental and regional quantification of 3D cellular density of human meniscus from osteoarthritic knee. *Journal of Tissue Engineering*

- and *Regenerative Medicine*. 2017;11(6):1844-1852. doi: 10.1002/term.2082.
11. Verdonk PC, Forsyth RG, Wang J, Almqvist KF, Verdonk R, Veys EM, Verbruggen G. Characterisation of human knee meniscus cell phenotype. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2005;13(7):548-560. doi: 10.1016/j.joca.2005.01.010.
 12. Rüger B, Giurea A, Wanivenhaus AH, Zehetgruber H, Hollemann D, Yanagida G, Groger M, Petzelbauer P, Smolen JS, Hoecker P, Fischer MB. Endothelial precursor cells in the synovial tissue of patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Arthritis and Rheumatism*. 2004;50(7):2157-2166. doi: 10.1002/art.20506.
 13. Osawa A, Harner CD, Gharaibeh B, Matsumoto T, Mifune Y, Kopf S, Ingham SJ, Schreiber V, Usas A, Huard J. The use of blood vessel-derived stem cells for meniscal regeneration and repair. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 2013;45(5):813-823. doi: 10.1249/mss.0b013e-31827d1e06.
 14. Petersen W, Pufe T, Stärke C, Fuchs T, Kopf S, Raschke M, Becker R, Tillmann B. Locally applied angiogenic factors – a new therapeutic tool for meniscal repair. *Annals of Anatomy*. 2005;187(5-6):509-519. doi: 10.1016/j.aanat.2005.04.010.
 15. Brytsko AA, Bahdanovich IP, Anosov VS. Puti uluchsheniya rezultatov lecheniya pacientov s razryvami meniskov kolennogo sustava [Approaches to improvement in patient outcomes after meniscal tears of the knee]. *Medicinskie novosti*. 2012;12:22-26. (Russian).
 16. Gunja NJ, Athanasiou KA. Passage and reversal effects on gene expression of bovine meniscal fibrochondrocytes. *Arthritis Research and Therapy*. 2007;9(5):R93. doi:10.1186/ar2293.
 17. Vagapova VSh. Funkcionalnaja morfologija kolennogo sustava. *Medicinskij vestnik Bashkortostana* [Bashkortostan Medical Journal]. 2007;5:69-74. (Russian).
 18. Kiselevskiy YuM, Ivantsov AV. Strukturno-funkcionalnye osobennosti kolennogo sustava [Structural and functional characteristics of knee joint]. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta* [Journal of the Grodno State Medical University]. 2008;1:109-112. (Russian).
 19. Senan V, Sucheendran J, Prasad, Balagopal K. Histological features of meniscal injury. *Kerala Journal of Orthopaedics*. 2011;24(1):30-36.
 20. Bogatov VB, Belonogov VN, Matveeva OV. Gistomorfologicheskie izmeneniya v povrezhdennyh meniskah u detej [Histomorphologic changes in injured menisci in children]. *Travmatologija i ortopedija Rossii* [Traumatology and Orthopedics of Russia]. 2010;4(58):30-36. (Russian).

HISTOLOGICAL CHANGES OF INJURED KNEE MENISCUS

Brytsko A. A., Lis R. E., Kuzmickij N. I., Bahdanovich I. P., Anosov V. S.

Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

Background. Posttraumatic changes and regenerative potential of the tissue depend on each other. Modern literature has insufficient information about pathological changes in the meniscus of the knee joint in patients after injury.

Objective. The aim of this study was to assess changes in the damaged part of the meniscus of the knee at various time from the moment of injury.

Material and methods. We compared 28 samples of the medial meniscus of the knee in patients before 4 months after injury and 34 samples more than 4 months after injury. The cell density and quality of meniscus tissue were determined according to the Rodeo scale.

Results. In the group of patients with chronic injury, a statistically significant decrease in the density of single cells was observed, as well as a decrease in the quality of the tissue according to the applied assessment scale.

Conclusion. Over time, the cell density in the damaged part of the meniscus decreases dramatically. The observed reduced quality of the tissue 4 months after injury can lead to meniscal repair failure.

Keywords: *meniscus of knee joint, cell density.*

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальным этическим комитетом.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local ethics committee.

Об авторах / About the authors

*Брытько Александр Александрович / Brytsko Alexander, e-mail: emik3ster@gmail.com, ORCID: 0000-0001-6600-6542

Лис Руслан Евгеньевич / Lis Ruslan, e-mail: r.lis@mail.ru,

Кузмицкий Николай Иванович / Kuzmickij Nicolai, e-mail: nikbelsudmed@mail.ru,

Богданович Игорь Петрович / Bahdanovich Igor, e-mail: proedu@grsmu.by,

Аносов Виктор Сергеевич / Anosov Victor, e-mail: aviktor8@gmail.com, ORCID: 0000-0002-7835-3231

* – автор, ответственный за переписку / corresponding author

Поступила / Received: 28.12.2018

Принята к публикации / Accepted for publication: 29.01.2019