

Ošetření hlubokých defektů chrupavky kolena transplantací autologních chondrocytů fixovaných na nosiči z esteru kyseliny hyaluronové (Hyalograft C)

Treatment of Deep Cartilage Defects of the Knee with Autologous Chondrocyte Transplantation on a Hyaluronic Acid Ester Scaffolds (Hyalograft C)

A. PODŠKUBKA¹, C. POVÝŠIL², R. KUBEŠ¹, J. ŠPRINDRICH³, R. SEDLÁČEK⁴

¹ Ortopedická klinika IPVZ a 1. LF UK a FN Na Bulovce, Praha

² Ústav patologie 1. LF UK a VFN a Katedra patologie IPVZ, Praha

³ Radiologická klinika 3. LF UK a FNKV, Praha

⁴ ČVUT, Fakulta strojní – Ústav mechaniky, Laboratoř biomechaniky člověka, Praha

Práce vznikla za podpory grantu IGA MZ ČR č. ND /7375-3¹ a č. NR/8150-4².

ABSTRACT

PURPOSE OF THE STUDY

The treatment of chondral defects by transplantation of autologous chondrocytes has recently shown further development. Various biomaterials are used as carriers facilitating attachment and even distribution of chondrocytes in the defect. Since 2003 Hyalograft C, hyaluronan-based scaffolds, has been used, in a clinical study, for implantation of autologous chondrocytes in the treatment of deep chondral lesions of the knee at our department.

MATERIAL

Eight patients (7 men and 1 woman; average age, 31 years) followed up for at least 9 months were evaluated. The lesions with an average size of 3.9 cm² were localized on femoral condyles.

METHODS

The outcome of surgery was evaluated on the basis of the IKDC Subjective Knee Evaluation Form, Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS) and Lysholm knee score. The patients underwent MR examination preoperatively and at 3, 6 and 12 months after surgery. The newly-formed cartilage was assessed by International Cartilage Repair Society (ICRS) visual scores at second-look arthroscopy carried out at 9 to 12 months following transplantation. Consistency of the new cartilage developing in the defect and that of healthy cartilage around the defect was compared by means of a special indentation probe in three patients. A biopsy sample was collected from the grafted site for histological, histochemical and immunohistochemical examination.

RESULTS

All patients reported improvement in knee function on average at 10 months after surgery. The average IKDC subjective score increased from 46 points preoperatively to 74 points postoperatively. The KOOS evaluation showed pain relief and improved function. In quality of life evaluation the average score of 35 points before surgery increased to 70 points after it. The average Lysholm knee score was 61 points before and 83 points after surgery. MR findings correlated well with arthroscopic findings. Second-look arthroscopy showed a normal appearance of the newly-formed cartilage in six, and an abnormal appearance in two patients. The average ICRS visual score was 9.4 points. No graft failure was recorded. The newly-produced tissue had the histological characteristics of a mixed hyaline and fibrous cartilage in seven patients, and of hyaline-like cartilage in one patient.

DISCUSSION

The ICRS visual repair assessment of the newly-formed tissue showed that our results were better than the one-year outcomes reported by Bartlett et al. (11 patients after transplantation of a collagen bilayer seeded with chondrocytes), but worse than the results of an Italian multi-center study (55 patients with Hyalograft C-based grafts followed up on average for 14 months).

At almost one year, implantation of on a Hyalograft C resulted in the production of mixed cartilage incorporated well in the subchondral bone. Only one patient had mature hyaline cartilage. One year is too short to allow for complete remodeling of the newly formed cartilage into a mature hyaline cartilage. This is in agreement with other studies suggesting that the new cartilage continues to mature and remodel for a time longer than one year.

CONCLUSIONS

Based on our results we suggest that the use of Hyalograft C is a safe and effective option for treatment of deep chondral defects of the knee; it is particularly useful in patients in whom the primary defect treatment has failed. The application of Hyalograft C is relatively quick and easy; this is convenient when surgery involves more than one procedure (ligament reconstruction, osteotomy). However, a definite evaluation of this method will be possible only after long-term results are available.

Key words: deep cartilage defects, chondral defects, cartilage repair, autologous chondrocyte transplantation, hyaluronan-based scaffold, Hyalograft C, cartilage repair assessment, ICRS.

ÚVOD

Kloubní (hyalinní) chrupavka plní v kloubu dvě důležité funkce, jedinečným způsobem kombinuje absorpci tlakové zátěže s neobyčejně nízkým koeficientem tření. Defekty kloubní chrupavky představují velký terapeutický problém. Příčinou je její malá regenerační schopnost.

Trauma, které poškodí chondrocyty a mezibuněčnou matrix, ale neprotrhne subchondrální kosti, má velmi malou šanci na zhojení. Jediná spontánní hojivá reakce, kterou můžeme zaznamenat je přechodná proliferace chondrocytů v blízkosti okraje defektu. V lézích, kde je subchondrální ploténka poškozena, dochází k reparační odpovědi, která zahrnuje vznik fibrinové sraženiny, migraci buněk z kostní dřene a prorůstání cév (6, 17). Shapiro prokázal, že původ reparačních buněk je v nediferencovaných mezenchymálních buňkách kostní dřene (28). Větší osteochondrální léze jsou často vyplněny směsí vazivové chrupavky a vaziva. Tato reparační tkáň je z mechanického hlediska méně odolná než hyalinní chrupavka a podléhá časné degeneraci (21).

Celková incidence traumatických lézí kloubní chrupavky je neznámá, protože klinicky může být izolované trauma kloubní chrupavky asymptomatické nebo se může projevit až po určitém čase. Udává se, že 5–10 % pacientů s akutním pouřazovým hemartrosem kolena má hluboký defekt kloubní chrupavky (7, 23). Poranění kloubní chrupavky jsou obvykle zjištěna při artroskopii. V retrospektivní studii, která hodnotila 31 516 artroskopií kolena, byla léze kloubní chrupavky zjištěna u 63 % pacientů, nejčastější lokalizací byla patela a mediální kondyl femuru, 19 % defektů bylo hlubokých IV. stupně podle Outerbridge (8).

I když další přirozený vývoj neošetřených izolovaných defektů kloubní chrupavky není přesně znám, předpokládá se, že symptomatické a větší defekty postupně progredují a hrají významnou roli v rozvoji osteoartrózy (19).

Mnoho desítek let probíhají snahy zlepšit nedostačnou schopnost regenerace kloubní chrupavky. Operační techniky, jako jsou návrty, abraze a mikrofraktury subchondrální kosti (kostní dřev stimulující techniky), mohou docílit vyplnění defektu převážně vazivovou chrupavkou a vazivem (13, 27, 29). Přes relativní klinickou úspěšnost těchto metod je trvanlivost vazivové chrupavky nejistá. Postupně dochází k zhoršování výsledků. Výhodou těchto metod je, že jsou vždy bez

další přípravy dosažitelné a snadno artroskopicky proveditelné. Přenos osteochondrálních bločků (mozaiková plastika) je limitován nutností jejich odběru z jiné části kloubu a možností přesného obnovení tvaru kloubní plochy u větších defektů (10).

Transplantace autologních chondrocytů jako nová terapeutická alternativa ošetření chondrálních defektů byla poprvé klinicky použita ve Švédsku v roce 1987. Transplantací suspenze autologních chondrocytů fixovaných v defektu periostálním štěpem lze u chronických defektů dosáhnout zlepšenou regeneraci hyalinní chrupavky (25). Metoda se ukázala jako klinicky efektivní v léčení velkých ložiskových defektů chrupavky v celé její tloušťce. Klinické studie prokazují, že dochází k podstatnému zmenšení bolesti a zlepšení funkce kloubu. Tato zjištění společně s prokázanou tvorbou tkáně podobné hyalinní chrupavce podporují hypotézu, že tato léčba založená na transplantaci buněk je regenerativní a ne pouze reparativní. Přes dosavadní slibné klinické výsledky je použití klasické techniky transplantace autologních chondrocytů s periostálním štěpem spojeno s četnými omezeními danými technikou operace a častým výskytem hypertrofie periostu. Problémy souvisejí s odběrem periostálního štěpu, nestandardní kvalitou periostu, jeho fixací, možností úniku buněk z defektu při jeho špatném utěsnění a různou biologickou reakcí transplantovaného periostu od počáteční delaminace po jeho hypertrofii (4, 25, 26).

Technika transplantace autologních chondrocytů prodlévá od svého zavedení do klinické praxe další vývoj (1, 3, 22, 30). Další vývojový stupeň v možnostech buněčné terapie defektů chrupavky představuje použití biomateriálů. Biomateriály je možno použít ke krytí defektu místo periostu (kolagenní membrány) nebo jako dočasný nosič pro uchycení a rovnoměrné rozmístění chondrocytů v defektu (transplantace II. generace). Vhodný nosič musí být biokompatibilní, postupně se odbourávat, když buňky začnou tvořit vlastní mezibuněčnou matrix a umožnit optimální integraci mezi novotvořenou a původní tkání. Materiál musí umožnit adhezi (přilnutí) kultivovaných chondrocytů na svém povrchu, umožnit jejich rovnoměrnou prostorovou 3D distribuci v defektu a tím stimulovat syntézu extracelulární matrix. Cílem nových technik s použitím biomateriálů je zmenšit invazivitu operace, zjednodušit aplikaci štěpu do defektu a zajistit jeho lepší stabilitu. V klinické praxi se v současné době používají nejčastěji nosiče ze zvířecího kolagenu a z esteru kyseliny hya-

luronové. Kyselina hyaluronová je v těle běžně se vyskytující glykosaminoglykan. Chemickou modifikací je získán esterifikovaný derivát kyseliny hyaluronové (HYAFF 11), který může být zpracován do stabilního uspořádání a vytvořit biologicky odbouratelné struktury. Jako nosič k transplantaci chondrocytů se používá plst z netkaných vláken esteru kyseliny hyaluronové. Do mezer mezi vlákny jsou usazeny chondrocyty (Hyalograft C). Štěp může být vložen přímo na spodinu připraveného chondrálního defektu. Studie in vitro potvrdily uchování chondrocytárního fenotypu a pokusy na zvířeti podpořily použití v klinické praxi (9).

Hyalograft C byl zaveden do klinické praxe v roce 1999 v Itálii /18/. Po analýze dostupných informací a klinických sledování jsme začali tuto metodu v rámci klinické studie používat od roku 2003 na naší klinice. V práci popisujeme naše první zkušenosti s touto metodou ošetření hlubokých chondrálních defektů. Cílem studie je zhodnocení funkčních výsledků, možností MR vyšetření v diagnostice a sledování hojení defektů. K objektivnímu posouzení novotvořené tkáně jsme prováděli kontrolní artroskopii, při které jsme hodnotili makroskopický nálezný a mechanické vlastnosti chrupavky. Biopsie odebrané z novotvořené tkáně v místě implantace Hyalograftu C byly vyšetřeny histologicky, histochemicky a imunohistochemicky.

SOUBOR PACIENTŮ A METODIKA

Na základě artroskopických nálezů byli vyhledáváni pacienti s chondrálními a osteochondrálními defekty kolenního kloubu vhodnými k ošetření transplantací autologních chondrocytů (Hyalograftem C). Indikováni pacienti byli seznámeni s možnostmi ošetření chondrálního defektu. Pacienti, kteří projeví zájem o transplantaci autologních chondrocytů, podepsali informovaný souhlas, byli zařazeni do studie.

Primární indikací k transplantaci autologních chondrocytů (Hyalograftu C) byl pouhý ohraničený defekt kloubní chrupavky III. a IV. stupně podle Outerbridge větší než 2 cm² u pacientů ve věku od 15 do 50 let. Pacienti s výraznější osteoartrózou byli ze studie vyloučeni.

Od listopadu 2003 do února 2005 bylo odoperováno 10 pacientů (9 mužů, 1 žena), jejich průměrný věk v době operace byl 31 let (15–41). U 8 pacientů byla etiologie defektu jednoznačně pouhý ohraničený, v anamnéze měli větší úraz a průměrná doba obtíží před operací byla 4,3 měsíce. U 2 pacientů byla etiologie defektů spíše degenerativní s průměrnou dobou obtíží 4,5 roku. Defekty jsme klasifikovali podle Outerbridge, 9 defektů bylo hodnoceno jako IV. stupeň a 1 defekt jako III. stupeň. Průměrná velikost defektů po ošetření byla 3,9 cm², největší ošetřený defekt měl 6 cm² (2–6 cm²). Všechny ošetřené defekty byly lokalizovány na kondylech femuru, 7krát na mediálním (MKF) a 3krát na laterálním kondylu femuru (LKF).

Všichni pacienti prodělali předchozí artroskopickou operaci postiženého kolenního kloubu: 2krát debridement defektu, 3krát odstranění volného fragmentu chrupavky a ošetření defektu s návrty subchondrální kosti,

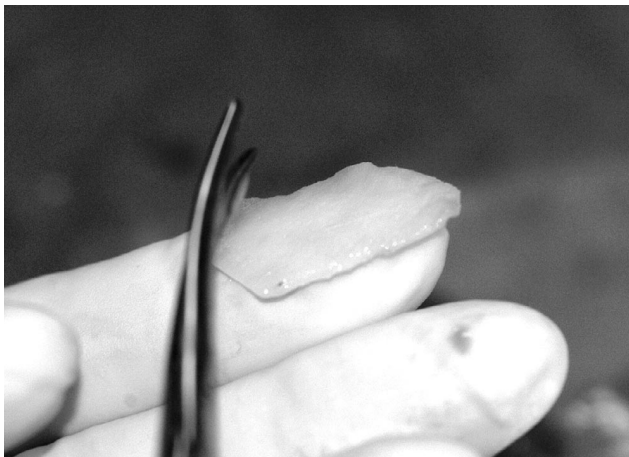
Tab. 1. Přehled hodnocených pacientů (LKF – laterální kondyl femuru, MKF – mediální kondyl femuru)

Pacient č.	Věk	Etiologie defektu	Předchozí ošetření defektu	Lokalizace defektu	Velikost defektu v cm ²	Další operace
1. HM	26	úraz	+	LKF	3,6	0
2. ZD	25	úraz	+	MKF	2	PZV
3. KV	39	degener.	0	LKF	3	0
4. JA	32	degener.	+	MKF	5	PZV
5. BD	37	opak. úraz	+	MKF	6	PZV
6. VZ	33	úraz	+	MKF	3	PZV
7. FO	28	úraz	0	MKF	3	PZV
8. KI	41	opak. úraz	0	MKF	3	0

6krát parciální mediální a 1krát parciální laterální meniskotomie. U jednoho pacienta byl před a u 4 pacientů současně s transplantací autologních chondrocytů rekonstruován přední zkřížený vaz. U 7 pacientů bylo poranění kolenního kloubu komplexní (poranění chrupavky, vazů a menisků), pouze u 3 pacientů bylo poranění chrupavky izolované.

Výsledky byly zhodnoceny u 8 pacientů s dobou sledování delší než 9 měsíců a s kompletní dokumentací. Jeden pacient se nedostavil ke kontrolní artroskopii a jeden byl v době hodnocení méně než 6 měsíců po operaci. Přehled hodnocených pacientů je uveden v tabulce 1.

Transplantace autologních chondrocytů probíhá ve dvou fázích. Nejdříve při artroskopii upřesníme lokalizaci, velikost, ohraničení defektu a stav okolní a protilehlé kloubní chrupavky. Současně zhodnotíme stav vazů a menisků. V indikovaných případech odebereme žlábkovým dlátem nebo prstencovou kyretou malé kousky zdravé kloubní chrupavky (150–200 mg) z nezářezové oblasti kloubní plochy. Odebrané kousky chrupavky dáme do živného média a ve speciálním chlazeném boxu odešleme do tkáňové laboratoře ke zpracování, které musí začít do 72 hodin po odběru. V tkáňové laboratoři jsou odebrané kousky chrupavky zpracovány, chondrocyty jsou enzymaticky izolovány a pomnoženy v tkáňové kultuře. V naší studii jsme použili jako nosič chondrocytů plst vyrobenou z netkaných vláken esteru kyseliny hyaluronové (HYAFF-11, FAB, Abbano, Itálie). Asi 2 týdny před transplantací jsou chondrocyty usazeny na nosič v denzitě 1 – 2 x 10⁶ / cm² a po dobu 14 dnů dále kultivovány. K transplantaci je podle velikosti defektu dodáván Hyalograft C (HYAFF-11 s chondrocyty) ve formě polštářků o velikosti 2 x 2 cm a tloušťce 2 mm. Asi po 4–6 týdnech od odběru chrupavky je pacient přijat k implantaci štěpu. Před operací podáváme profylakticky antibiotika. Operujeme v bezkrevi, artrotomii volíme podle lokalizace defektu. Skalpelem zarovnáme okraje defektu do zdravé chrupavky. Integrace novotvořené chrupavky s okolní poškozenou chrupavkou je horší, může dojít k odloučení štěpu. Spodinu defektu očis-



Obr. 1. Hyalograft C – úprava štěpu

tíme kyretou nebo chirurgickou lžičkou od zbytků chrupavky a jizevnaté tkáně. Při čištění spodiny defektu se vyvarujeme krvácení ze subchondrální kosti. Změříme velikost ošetřeného defektu. Štěp upravíme na požadovanou velikost a vložíme v jedné nebo dvou vrstvách do defektu tak, aby defekt co nejlépe vyplňoval, ale nepřesahoval jeho okraje (obr. 1). Hyalograft C má dobré adhezivní vlastnosti. V našem souboru jsme štěp po obvodu ještě fixovali fibrinovým lepidlem (Tissucol, Baxter AG, Vídeň, Rakousko). Po uvolnění turniketu vyzkoušíme stabilitu štěpu pomalým opakovaným natažením a ohnutím kolena. R-drén zavádíme tak, aby nenaléhal v místě ošetřeného defektu a nepoužíváme aktivní podtlak. Artrotomii uzavřeme po anatomických vrstvách, aplikujeme kompresivní obvaz. Na 24 až 48 hodin kolenní kloub imobilizujeme ortézou v extenzi. Po 24 hodinách odstraníme R-drén.

Základní schéma pooperační rehabilitace. Od 1. pooperačního dne pacient chodí o 2 francouzských holích se zátěží operované končetiny do 20 kg. Od 2. pooperačního dne začínáme s rehabilitačním programem. Základem je kontinuální pasivní pohyb (CPM) na motorové dlaze 2 x 2 hodiny (podle možnosti i déle) v rozsahu 0°–40° flexe (rozsah zvýšíme na 0°–60° pokud je to pro pacienta přijatelné) a izometrické posilování m. quadriceps femoris. Od 4.–6. týdne zátěž postupně zvyšujeme, každý týden o 20 kg. Od 4.–6. týdne rehabilitaci doplní jízda na rotopedu a cvičení ve vodě. Od 3. měsíce po operaci jsou možné běžné denní aktivity, návrat k dalším aktivitám bez omezení většinou doporučujeme za 6–9 měsíců po operaci. Rehabilitační program je modifikován podle lokalizace a velikosti defektu, dalších přidružených operací a podle typu pacienta.

K hodnocení jsme použili přepracované IKDC subjektivní skóre (IKDC Subjective Knee Evaluation Form-2000) (12), nově vytvořený dotazník KOOS (Knee Osteoarthritis and Injury Outcome Score) (14) a klasické skóre podle Lysholma (16). Pacienti byli hodnoceni před operací (během hospitalizace před transplantací) a v průměru 10 měsíců po operaci (před kontrolní artroskopií). IKDC skóre hodnotí symptomy, sportovní

aktivity a funkci kolena. Celkem se hodnotí 18 položek, minimální počet bodů je 18, maximální 105 bodů. Takto získané skóre musí být přepočítáno podle vzorce na výsledné IKDC subjektivní skóre (0–100). KOOS skóre hodnotí 5 položek: bolest, další symptomy, každodenní činnosti, sport a rekreační aktivity, kvalitu života. Každá odpověď je hodnocena 0 až 4 body. Celkový součet bodů v každé položce je přepočítáván pomocí vzorce na tzv. normalizované skóre. Vyšší skóre značí lepší výsledek. Každá položka se hodnotí samostatně. Za velmi důležitou součást dlouhodobějších studií je považováno hodnocení kvality života.

U každého pacienta bylo provedeno předoperační nativní MR vyšetření k zhodnocení přítomného defektu chrupavky. MR kontroly následovaly po 6 měsících od operace, kdy byly pořízeny jak nativní skeny podle dále uvedeného protokolu, tak postkontrastní skeny 90 minut po i.v. aplikaci 10 ml Magnevistu. MR vyšetření byla zhotovena na celotělovém přístroji Prestige Elscint o síle pole 2T v kolenní cívce při FOV 18 x 18 cm, vrstvě 3 mm a matrix 326 x 326. Byl zvolen tento protokol: SE T1 cor, FSE PD/T2 sag, SE T1 FS sag, GRE T1 ax. U pacientů po operaci bylo i.v. podáno 10 ml Magnevistu (Schering AG, Berlín, Německo) a po 90 minutách byly doplněny sekvence SE T1 FatSat sag a cor, IRFSE PD/T2 sag.

Kontrolní (second-look) artroskopie byla plánována 9 až 12 měsíců po operaci. Novotvořená chrupavka byla posuzována makroskopicky pomocí ICRS vizuálního skóre (tab. 2). Hodnotí se 3 kritéria: výplň defektu novotvořenou tkání, její integrace s okolní chrupavkou a mak-

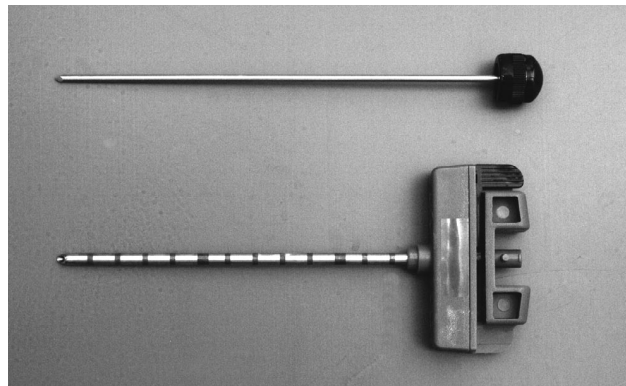
Tab. 2. ICRS vizuální skóre reparace chrupavky

Kritéria	Hodnocení	Body
I Výplň defektu nově tvořenou tkání	V úrovni okolní chrupavky	4
	75% hloubky defektu	3
	50%	2
	25%	1
	0%	0
II Integrace s okolní chrupavkou	Kompletní integrace se sousední chrupavkou	4
	Demarkace okraje < 1mm	3
	¼ štěpu integrovány, ¼ s demarkační linií > 1mm	2
	½ štěpu integrována, ½ s demarkační linií > 1mm	1
	Integrace štěpu do ¼ obvodu	0
III Makroskopický vzhled povrchu	Intaktní hladký povrch	4
	Povrchové fibrilace	3
	Malé roztroušené trhliny a praskliny	2
	Více malých nebo málo, ale rozsáhlých trhlin	1
	Úplná degenerace štěpu	0
Celkové hodnocení:		
stupeň I	normální	12 b.
stupeň II	téměř normální	8-11 b.
stupeň III	abnormální	4- 7 b.
stupeň IV	silně abnormální	1- 3 b.

roskopický vzhled povrchu. Každé kritérium může být ohodnoceno maximálně 4 body (0–4). Celkové hodnocení je dáno součtem bodů. Při celkovém součtu bodů 12 je chrupavka hodnocena jako normální, při součtu 8 až 11 jako téměř normální, při součtu 4 až 7 jako abnormální a při součtu 1 až 3 jako výrazně abnormální.

Pro funkci chrupavky jsou důležité její mechanické vlastnosti. Hodnocení tuhosti chrupavky pomocí palpace bylo vylepšeno dotykovým měřidlem, které bylo k tomuto účelu vyvinuto na ČVUT (11). Dotykové měřidlo umožňuje tuhost chrupavky během artroskopického vyšetření kvantifikovat. Pracuje na principu vzájemného porovnávání hodnot tuhosti reparované chrupavky v místě defektu se zdravou chrupavkou v okolí defektu (naměřená hodnota zdravé chrupavky odpovídá 100 %). Principem zařízení je měření deformace vnitřní části sondy, na které je dotykový hrot, pomocí tenzometrů. Pro zajištění stejných měřicích podmínek je nutné dodržet zatížení vnějšího pláště sondy konstantní silou 10 N. Měřené hodnoty jsou zobrazeny na displeji vyhodnocovací jednotky. Sonda má tvar tyčinky o průměru 8 mm, která musí být sterilizovatelná a může být zavedena přes artroskopický vstup do kolenního kloubu. Na konci sondy je zkosená ploška v jejímž středu je dotykový hrot. Při měření se používá standardní tlak 10 N. Tlak, který působí na výčnělek při deformaci chrupavky je použit jako ukazatel tuhosti chrupavky.

Při kontrolní artroskopii byly z místa transplantace odebrány biotické vzorky k histologickému, histochemickému a imunohistochemickému vyšetření. K artroskopické biopsii jsme použili speciální jehlu k odběru kostní dřevě o průměru 2 mm (Goldenberg Snarecoil, Ranfac Corp., Avon, MA, USA) (obr. 2). Pomocí jehly jsme odebrali cylindrické bločky o průměru 2 mm v celé výšce chrupavky i s částí subchondrální kosti podle doporučení ICRS. Všechny vzorky byly před zpracováním lehce odvápněny a po odvodnění zality do parafínu, aby mohly být zhotoveny histologické řezy klasickým postupem. Histologické řezy byly barveny hematoxylinem eozinem a modrým trichromem. Barvení alcianovou modří při pH 2,5 a 0,5 a safraninem jsme použili k znázornění obsahu proteoglykanů, které jsou



Obr. 2. Jehla k artroskopické biopsii

běžnou součástí chrupavkové mezibuněčné hmoty. Imunohistochemické vyšetření bylo zaměřeno na průkaz přítomnosti buněk s charakteristickým imunofenotypem chondrocytů. K tomuto účelu jsme použili protilátku proti S-100 proteinu (DAKO). Novotvořená tkáň byla hodnocena histologem dle následujících kritérií: charakter povrchu, složení mezibuněčné hmoty, uspořádání a vitalita buněk, stav subchondrální kosti, kalcifikace chrupavky a spojení (integrace) novotvořené chrupavky s kostí.

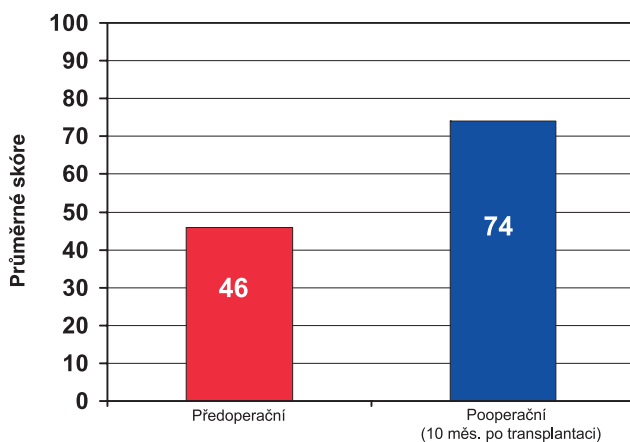
Sledovali jsme výskyt komplikací ve spojení s touto operací. Lehký otok a lehce zvýšená teplota kolena v prvních týdnech po operaci je normální. Nebolestivá krepitace se považuje za projev tvorby hypertrofické tkáně.

VÝSLEDKY

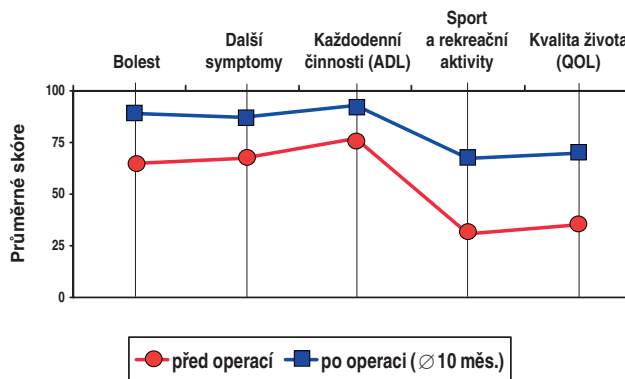
Výsledky byly zhodnoceny u 8 pacientů s dobou sledování minimálně 9 měsíců, v průměru 10 měsíců (9–12) po operaci.

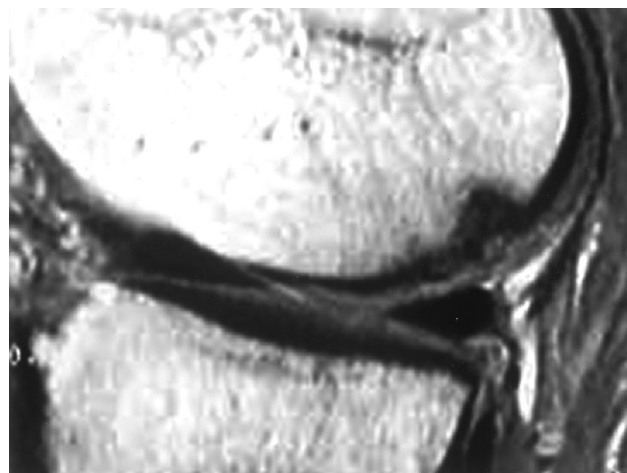
Předoperační a pooperační stav kolenního kloubu byl hodnocen pomocí dotazníku IKDC pro subjektivní hodnocení, dotazníku KOOS a skóre podle Lysholma. V průměru 10 měsíců po operaci jsme zaznamenali signifikantní zlepšení stavu operovaného kolenního kloubu u všech pacientů. Bylo zjištěno zlepšení symptomů, úrovně aktivity i funkce kolena. Průměrné IKDC skóre

Graf 1. IKDC subjektivní hodnocení

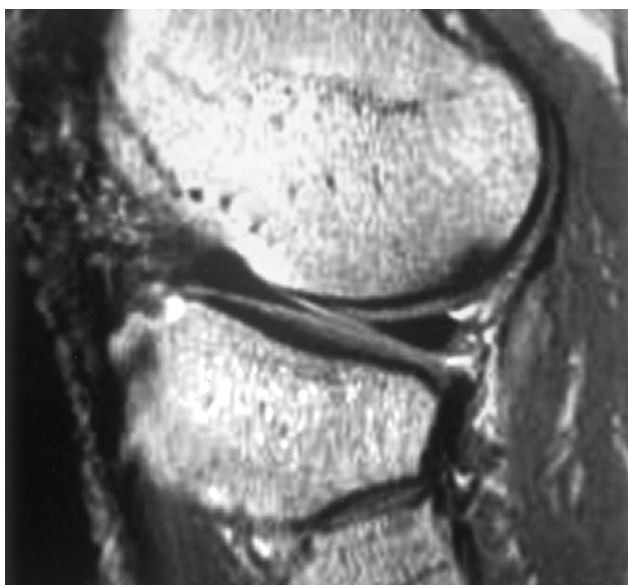


Graf 2. KOOS skóre





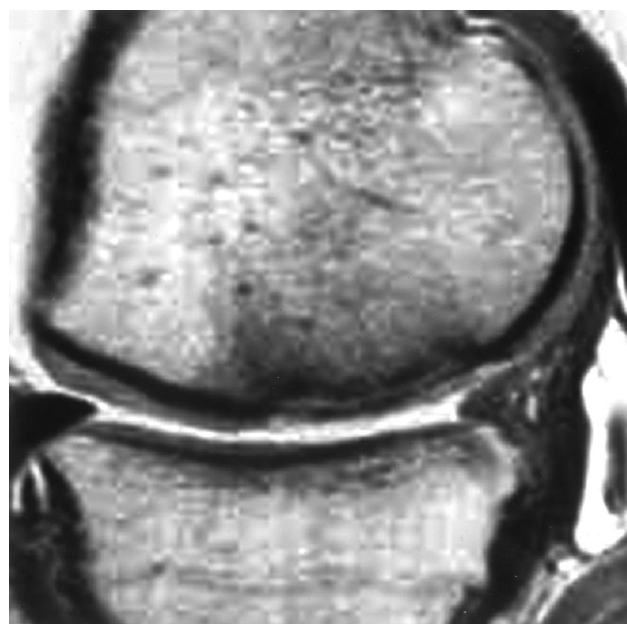
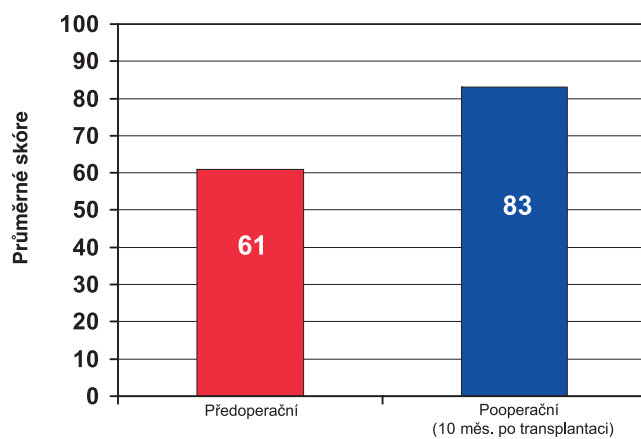
a | c
b



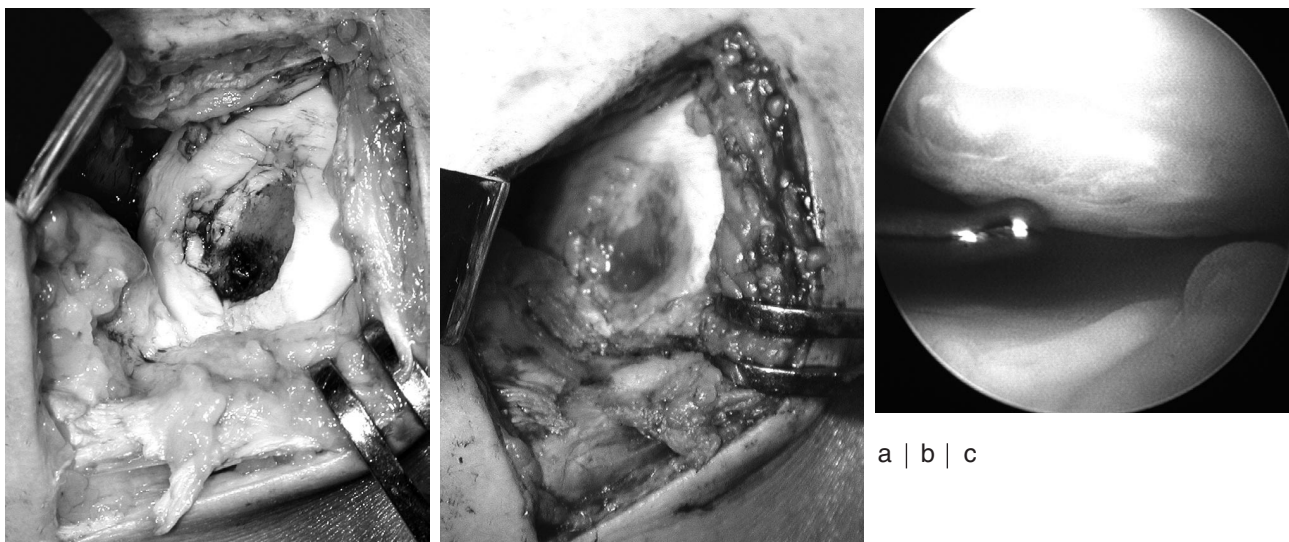
Obr. 3. MR vyšetření (FSE PD sag) 3, 6 a 12 měsíců po transplantaci.

- a) Oválný defekt chrupavky na konvexitě laterálního kondylu femuru 3 měsíce po transplantaci. Ložisko je dobře demarkované, zasahuje do subchondrální kosti, povrch výplně je lehce zvlněný v úrovni okolní chrupavky.
- b) Defekt 6 měsíců po transplantaci. Ložisko je jen neostře demarkované, dochází k normalizaci signálu výplně s okrsky nižšího signálu a ústupu subchondrálního edému, povrch výplně je nerovný.
- c) Defekt 12 měsíců po transplantaci. Spodina defektu je vyplněna, obnovuje se kontura subchondrální kosti, normalizace signálu výplně defektu, její povrch lehce prominuje nad niveau okolní chrupavky.

Graf 3. Lysholmovo skóre



Obr. 4. MR vyšetření (FSE PD sag) 3 měsíce po transplantaci. Defekt chrupavky na konvexitě mediálního kondylu femuru velikosti 25 x 20 mm, defekt zasahuje do hloubky 2–3 mm do subchondrální kosti, signál výplně je nehomogenní, povrch je nerovný.

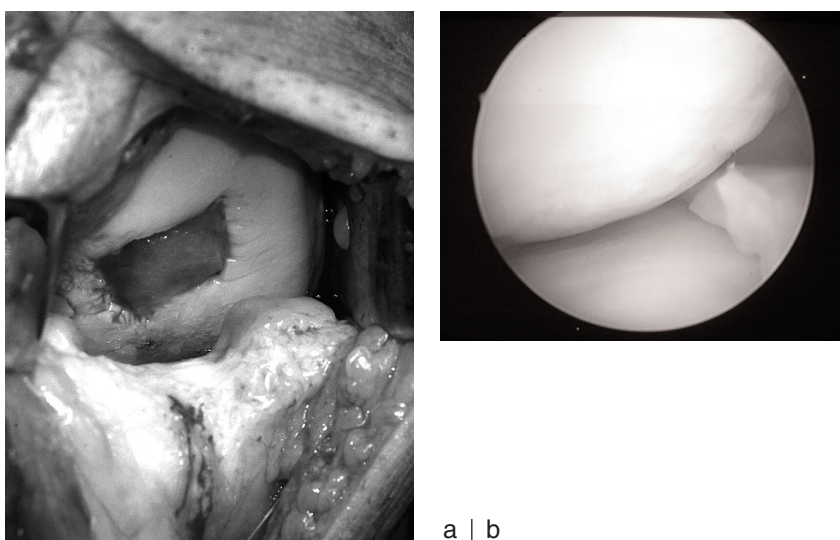


Obr. 5. Peroperační nález a nález při kontrolní artroskopii 9,5 měsíce po transplantaci.

a) Pouřazový defekt laterálního kondylu femuru velikosti 18 x 20 mm, hloubka 7 mm.

b) Defekt vyplněný štěpem (Hyalograf C) ve 2 vrstvách, štěp je po obvodu fixovaný fibrinovým lepidlem.

c) Nálež při kontrolní artroskopii 9,5 měsíce po transplantaci. ICRS vizuální hodnocení: defekt vyplněn do úrovně okolní chrupavky, kompletní integrace s okolní chrupavkou, povrch je lehce zvlňněný.



Obr. 6. Peroperační nález a nález při kontrolní artroskopii 9 měsíců po transplantaci.

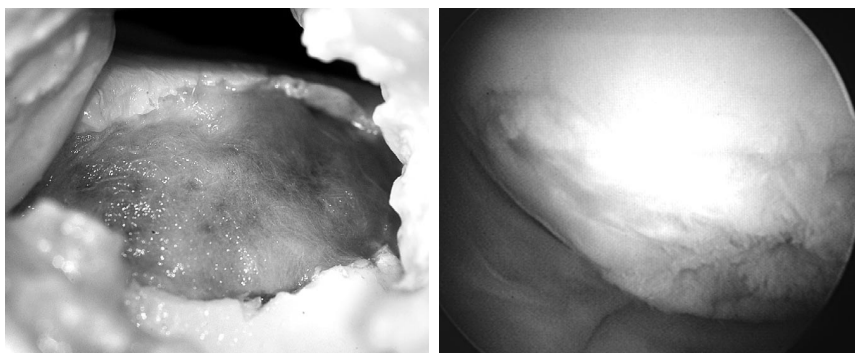
a) Pouřazový defekt mediálního kondylu femuru velikosti 15 x 23 mm.

b) Nálež při kontrolní artroskopii 9 měsíců po transplantaci. ICRS vizuální hodnocení: defekt dobře vyplněný do úrovně okolní chrupavky, kompletní integrace, místy povrchové fibrilace.

se zvýšilo z 46 bodů před operací na 74 bodů po operaci (graf 1). KOOS skóre hodnotí 5 položek: bolest, další symptomy, každodenní činnosti (ADL), sport a rekreační aktivity a kvalitu života (QOL). Průměrné předoperační a pooperační hodnocení jednotlivých položek je uvedeno v grafu 2. Jak je z grafu patrné došlo k podstatné redukci bolesti a zlepšení funkce. Za velmi důležité je považováno hodnocení kvality života. Pacient zde odpovídá na následující 4 otázky: Jak často máte s kolenem problémy? Změnil(a) jste svůj životní styl, aby jste se vyvaroval(a) případnému poškození kolena? Jak moc vás obtěžuje, že se na koleno nemůžete spolehnout? Obecně, jak velké obtíže máte s kolenem? Při hodnocení kvality života se průměrné skóre zvýšilo z 35 bodů před operací na 70 bodů 10 měsíců po operaci. Při hodnocení podle Lysholma bylo průměrné hodnocení před operací 61 bodů, po operaci 83 bodů (graf 3).

Pomocí MR vyšetření lze hodnotit stupeň reparace chrupavčitého defektu, dynamiku výplně ložiska, jeho povrch i normalizaci signálové intenzity chrupavky. Dobře je hodnotitelná integrita subchondrální kosti, případné hlubší defekty zasahující do kosti a jejich přestavba. Cenným ukazatelem je i kostní edém, který nad dobře integrovanou chrupavkou vymizí. Podle našich sledování dochází k vyhlazení povrchu chrupavčité výplně u mělkých defektů mezi 6–12 měsícem od operace, u hlubších subchondrálních defektů tento proces trvá déle. MR nálezy poměrně dobře korelují s nálezy artroskopickými (obr. 3, 4).

Za nejdůležitější část naší studie považujeme nálezy při kontrolní artroskopii a histologické hodnocení novotvořené tkáně. Kontrolní artroskopie byla provedena u 8 pacientů v průměru za 10 měsíců (9–12) po transplantaci. K makroskopickému hodnocení novotvořené tkáně



Obr. 7. Peroperační nález a nález při kontrolní artroskopii 12 měsíců po transplantaci.

a) Defekt mediálního kondylu femuru velikosti 30 x 20 mm po opakovaných úrazech. Ošetřený defekt vyplněný štěpem (Hyalograft C).

b) Nález při kontrolní artroskopii 12 měsíců po transplantaci. ICRS vizuální hodnocení: defekt ze 2/3 dobře vyplněný do úrovně okolní chrupavky, z 1/3 vyplněný hypertrofickou rozvlákněnou chrupavkou, 2/3 štěpu integrovány, roztroušené trhliny a praskliny v dorzální části (po shavingu hypertrofické chrupavky).

jsme použili ICRS vizuální skóre. Výsledky jsou přehledně uvedeny v tabulce 3. Vzhled novotvořené chrupavky byl hodnocen u 6 pacientů jako téměř normální a u 2 pacientů jako abnormální. Průměrné vizuální skóre všech pacientů bylo 9,4 bodu z 12 možných bodů. Nejlépe bylo hodnoceno vyplnění defektu, zcela vyplněn novotvořenou tkání byl defekt u 6 pacientů. Neúplná integrace novotvořené tkáně s okolní chrupavkou byla zjištěna u 3 pacientů. V jednom případě byla novotvořená tkáň na povrchu nerovná a rozvlákněná. V jednom případě byla novotvořená tkáň hypertrofická, měkká, rozvlákněná do vlajících klků. U tohoto pacienta byl celkový vzhled novotvořené tkáně hodnocen jako abnormální. V žádném případě nebylo zjištěno celkové selhání štěpu. Některé peroperační nálezy při transplantaci a nálezy při kontrolní artroskopii jsou dokumentovány na obrázcích 5, 6 a 7.

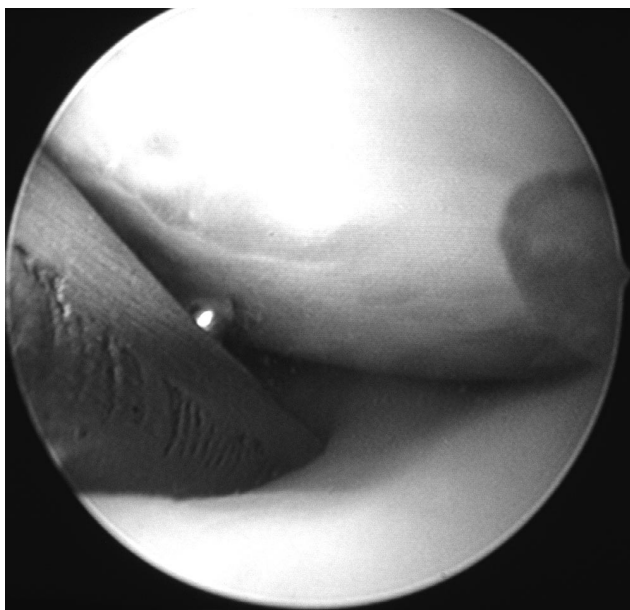
Hodnocení tuhosti novotvořené tkáně a zdravé chrupavky při artroskopickém vyšetření pomocí dotykového měřidla bylo provedeno u 3 pacientů (tab. 3). U 2 pacientů 9 měsíců po transplantaci s ICRS vizuálním skóre 11 bodů (skoro normální) byla naměřena hodnota tuhosti novotvořené tkáně 82 % a 90 % (tuhost zdravé chru-

pavky je 100%) (obr. 8). U pacienta 9 měsíců po transplantaci s ICRS vizuálním skóre 7 (abnormální) byla naměřena hodnota 50 %.

Při kontrolní artroskopii byl u všech 8 pacientů odebrána bioptický vzorek z místa transplantace autologních chondrocytů k histopatologickému, histochemickému a imunohistochemickému vyšetření. Ve všech vyšetřených vzorcích byla zachycena nově vytvořená chrupavka a pod ní se nacházející úzká vrstva subchondrální a spongiózní kosti. Novotvořená tkáň měla ve většině případů (7 pacientů) charakter smíšené chrupavky (směs vazivové a hyalinní chrupavky) s převahou vazivové komponenty s nepravidelně distribuovanými okrsky chrupavky hyalinní. U jednoho pacienta měla již charakter chrupavky hyalinního typu. V převažujících oblastech vazivové chrupavky mezibuněčná hmota obsahovala nepravidelně orientované silné i jemné snopce kolagenních vláken typu II, mezi nimiž se nacházela homogenní nefibrilární mezibuněčná hmota s vysokým obsahem proteoglykanů. Jejich přítomnost byla ověřena v histochemických reakcích za použití barvení alciánovou modří a safraninem. Nově vytvořená chrupavková tkáň byla místo od místa různě buněčná a sestávala

Tab. 3. Přehled výsledků včetně ICRS vizuálního skóre a histologických nálezů (ADL: každodenní činnosti, QOL: kvalita života).

Pacient č.	Kontrolní ASK/měs.	Lysholmovo skóre	IKDC subj.	KOOS					ICRS vizuální skóre	Tuhost	Histolog.
				Sympt	Bolest	ADL	Sport	QOL			
1. HM	9,5	92	78,2	96,4	97,2	98,5	75	87,5	st II	82 %	smíšená
2. ZD	9	95	94,3	96,4	97,2	100	90	87,5	st III	50 %	smíšená
3. KV	9,5	88	82,8	78,6	100	100	75	81,3	st II	–	smíšená
4. JA	11	82	66,7	82,1	94,5	95,6	60	68,7	st III	–	smíšená
5. BD	12	64	56,3	75	62,2	79,4	25	37,5	st II	–	smíšená
6. VZ	10	58	44,8	85,7	75	77,9	55	50	st II	–	smíšená
7. FO	9	92	78,2	96,4	97,2	98,5	75	75	st II	90 %	hyalinní podobná
8. KI	10	99	95,4	92,9	97,2	98,5	90	87,5	st II	–	smíšená



Obr. 8. Hodnocení tuhosti nově vytvořené a zdravé chrupavky při artroscopickém vyšetření pomocí dotykového měřidla.

z elementů, které ve své valné většině měly všechny charakteristiky chrupavkových buněk, často s typickou lakunární úpravou. 50 % až 80 % buněk chrupavkové tkáně dávaly zřetelně pozitivní reakci v imunohistochemické reakci k průkazu S100 proteinu. Pozitivita S-100 proteinu se v mezenchymálních tkáních vyskytuje pouze u chondrocytů.

Nově vytvořená chrupavková tkáň vykazovala určité náznaky zonální diferenciace jaké jsou známy v kloubní chrupavce. V povrchových vrstvách převažovaly menší elementy spíše vřetenovitého tvaru orientované paralelně s povrchem. V dolní polovině vrstvy chrupavky naproti tomu převládaly objemnější chondrocyty cha-

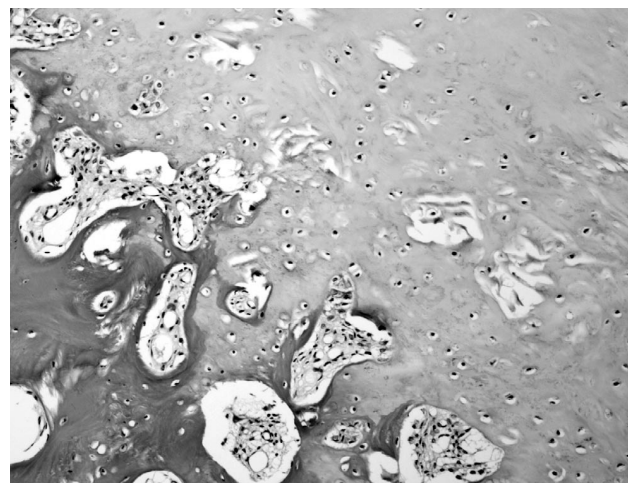
rakteru lakunárních chrupavkových buněk. Uspořádání ve zřetelné sloupce jsme však neviděli. Zóna mineralizace byla vytvořena v obvyklé lokalizaci v inkompletní podobě u 2 pozorování a sice tvořila nejspodnější vrstvu chrupavkového krytu (obr. 9).

Kostní trámce v těsném sousedství chrupavkového krytu byly většinou orientovány kolmo k povrchu, to znamená paralelně s dlouhou osou kosti a směrem do stran přecházely v krátké trámce naléhající ze spodní strany na vrstvu chrupavky a vytvářely tak základ pro tzv. kostní plató, které však zatím nemělo charakter souvislé vrstvy. Kolmo orientované kostní trámce nacházející se v této části bioptických vzorků vykazovaly známky živě probíhající přestavby. Svědčila pro to přítomnost nápadných osteoblastických lemů a poměrně četných osteoklastů. Intertrabekulární prostory v těchto místech obsahovaly četné kapiláry a příměs vaziva. Ve dvou případech jsme v těchto prostorách zároveň zaznamenali skupinky makrofágů s bazofilní cytoplazmou, která se přibarvovala alciánovou modří, proto se domníváme, že se jedná o zbytky fagocytovaného nosiče tkáňové kultury tvořeného vláknitým materiálem sestávajícím z esteru kyseliny hyaluronové.

Závažnější komplikace ve spojení s touto operací se v našem souboru nevyskytly. U 2 pacientů jsme pozorovali krátkodobé pooperační zvýšení teploty se známkami lehké synoviality operovaného kolenního kloubu. Tyto obtíže po 4 až 6 týdnech spontánně vymizely. U žádného pacienta nemusel být proveden redres nebo artroskopie pro mechanické problémy při symptomatické hypertrofii štěpu nebo artrofibróze.

DISKUSE

Za 9–12 měsíců po operaci udávali všichni pacienti zlepšení funkce kolena a symptomů ve srovnání se stavem před operací a byli s výsledkem operace spokojeni.



Obr. 9. Histologické nálezy.

a) Přehledný snímek zachycující nově vytvořenou chrupavku hyalinního typu nasedající na kostní tkáň. Ve spodních vrstvách nově vytvořené chrupavky zatím chybí kalcifikovaná zóna a chondrocyty nejsou na rozdíl od normální hyalinní chrupavky uspořádány ve sloupce. Subchondrální kostní vrstva je zatím inkompletní (barveno hematoxylinem – eosinem, zvětšeno 180x).

b) Identická oblast v detailu (zvětšeno 280x).

ni. Výsledky jsou ovlivněny dalšími operacemi postiženého kolenního kloubu, ošetřením menisků a rekonstrukcí předního zkříženého vazů při odběru chrupavky nebo současně s transplantací autologních chondrocytů u více než 50 % pacientů (5 z 8). Pouze u 3 pacientů bylo poškození chrupavky izolované. Přesto se domníváme, že zejména zmírnění bolesti bylo významně ovlivněno ošetřením chondrálního defektu.

Stejně jako v našem souboru je udáváno signifikantní funkční zlepšení ve většině publikovaných studií (2, 18, 25). Přímé srovnání výsledků různých publikovaných studií je však obtížné. Jsou používány různé metody transplantace autologních chondrocytů, soubory pacientů jsou různorodé s různou dobou sledování, výsledky jsou ovlivněny přidruženými operacemi a k hodnocení jsou používána různá skóre.

Peterson a kolektiv hodnotí soubor 101 pacienta 2–9 let po klasické transplantaci autologních chondrocytů s použitím periostálního štěpu (25). Nejlepší výsledky zjistil u pacientů s izolovaným defektem kondylu femuru (dobré a velmi dobré klinické výsledky u 92 % pacientů). U pacientů s defektem kondylu femuru a současnou rekonstrukcí předního zkříženého vazů udává dobré a velmi dobré výsledky u 75 % pacientů. Při hodnocení podle Lysholma došlo u izolovaných defektů na kondylech femuru ke zlepšení skóre z 43,5 bodu před operací na 84,7 po operaci, při současném ošetření defektu na kondylech femuru a rekonstrukci předního zkříženého vazů došlo k zlepšení skóre z 55,2 bodu před operací na 79 po operaci. Bartlett srovnává výsledky transplantace autologních chondrocytů u dvou skupin pacientů, v první byl použit zvířecí kolagen typ I/III jako štěp ke krytí defektu místo periostu a u druhé ve formě membrány jako nosič chondrocytů (2). K hodnocení používá modifikované Cincinnati skóre. Klinické výsledky po 1 roce hodnotí jako dobré a velmi dobré u 59,1 % pacientů v první skupině a u 72,3 % pacientů v druhé skupině. Lepší výsledky zjistil u pacientů s trváním předoperačních obtíží do 1 roku a u mladších pacientů do 35 let, horší výsledky u pacientů s defektem větším než 5 cm² a při reoperacích po předchozím neúspěšném ošetření defektu. Višňa a kolektiv publikoval sledování souboru 12 pacientů 1 rok po ošetření defektu kolena transplantací chondrocytů v Tissucolu (30). Udává zlepšení skóre podle Lysholma z 46 bodů před operací na 81,5 bodu po operaci. Na Ortopedické klinice ve Vídni používají Hyalograft C k ošetření defektů chrupavky kolena od konce roku 2000 (20). Ve studii uvádí výsledky u 22 pacientů s dobou sledování 1–3 roky. Průměrný věk pacientů byl 35 let, průměrná velikost defektu 4,7 cm². Při hodnocení všech pacientů došlo k zlepšení skóre podle Lysholma z 51 bodů před operací na 75 bodů po operaci. Při hodnocení pacientů s izolovaným ohraničeným defektem chrupavky došlo ke zlepšení z 57 bodů před operací na 94 po operaci. Ve studii však nejsou uvedeny artroskopické a histologické nálezy.

Největší soubor dat analyzujících použití Hyalograftu C v klinické praxi představuje multicentrická studie prováděná v Itálii od roku 2001. Marcacci a kolektiv hodnotí klinické výsledky u 141 pacientů s dobou sle-

dování 2 až 5 let (18). Průměrná velikost defektu byla 3,5 cm². IKDC subjektivní skóre se zvýšilo z 39,3 bodu před operací na 72 bodů za 17 měsíců po operaci a na 78 bodů za 40 měsíců po operaci. IKDC skóre se signifikantně zvýšilo s delším odstupem po operaci.

Při makroskopické hodnocení novotvořené tkáně podle ICRS vizuálního skóre byl v naší studii v průměru 10 měsíc po operaci hodnocen nález jako dobrý nebo velmi dobrý u 6 z 8 pacientů, tj. u 75 %. Ve studii z roku 2000 uvádí Peterson makroskopické hodnocení novotvořené tkáně podle Brittberga shodné s ICRS vizuálním skóre u pacientů 2–7 roků po klasické transplantaci autologních chondrocytů s periostálním štěpem (25). Ve skupině pacientů s izolovaným defektem kondylu femuru udává skóre 10,3 a ve skupině s defektem kondylu femuru a současnou rekonstrukcí předního zkříženého vazů skóre 10,9 bodu. Ve studii z roku 2002 hodnotí ICRS vizuální skóre u 11 pacientů při kontrolní artroskopii v průměru 54,3 měsíce po operaci (24). Průměrné hodnocení bylo 10,6 bodů z 12 možných. U 6 z 11 pacientů byl povrch novotvořené chrupavky lehce rozvlákněný, jeden štěp byl těžce abnormální a měl vzhled vazivové tkáně. Bartlett hodnotí ICRS vizuální skóre u 18 z 47 pacientů 1 rok po transplantaci autologních chondrocytů s použitím nosiče ze zvířecího kolagenu (2). U 66,6 % pacientů byl nález hodnocen jako dobrý nebo velmi dobrý. Višňa makroskopicky zhodnotil novotvořenou tkáň u 4 pacientů s odstupem 3–5 měsíců po transplantaci autologních chondrocytů ve fibrinovém lepidle (30). Ve dvou případech zaznamenal kompletní prohojení defektu a ve dvou částečnou degeneraci štěpu, ICRS skóre s průměrnou hodnotou 8,5 bodu. V multicentrické studii Marcacci hodnotil při kontrolní artroskopii ICRS vizuální skóre novotvořené tkáně u 55 pacientů v průměru 14 měsíců po transplantaci s použitím Hyalograftu C (18). U 53 pacientů (96,4%) byla hodnocena jako normální nebo téměř normální. Ve většině případů byl defekt vyplněn s dobrou integrací k původní okolní chrupavce.

Hodnocení mechanických vlastností chrupavky jsme našli pouze v publikacích švédské skupiny (24, 25). V práci z roku 2000 byly mechanické vlastnosti novotvořené chrupavky testovány háčkem 18 měsíců po operaci. Ve většině případů byly stejné nebo novotvořená chrupavka byla lehce měkkší než okolní chrupavka. Ve studii z roku 2002 jsou uvedeny výsledky měření mechanických vlastností chrupavky pomocí elektromechanické sondy u 11 pacientů (12 defektů) při kontrolní artroskopii v průměru 54,3 měsíce (33–84) po transplantaci. Byla měřena tuhost novotvořené chrupavky v centrální části původního defektu a okolní zdravé chrupavky. Průměrná tuhost novotvořené chrupavky byla 2,4 N a zdravé chrupavky 3,2 N. Průměrná tuhost chrupavky hyalinní podobné byla 3,0 N a vazivové chrupavky 1,5 N. V 8 z 12 měření odpovídala naměřená hodnota tuhosti novotvořené chrupavky 90 % normální kloubní chrupavky.

Histopatologické vyšetření spolu s vyšetřením histochemickým a imunohistochemickým u našich pacientů jednoznačně prokázaly, že implantace kultury chondro-

cytů spolu s nosičem vede k vytvoření nového chrupavkového krytu v místě defektů kloubních chrupavek. Rozbor biopsií v naší studii prokázal směs hyalinní a vazivové chrupavky u většiny vzorků odebraných v průměru 10 měsíců po operaci (7krát smíšená chrupavka, 1krát hyalinní chrupavce podobná). Po necelém roce vznikla dobře ke kosti fixovaná kloubní chrupavka převážně fibrohyalinního typu, jejíž buněčnost se místo od místa lišila. Pouze v jednom případě jsme zaznamenali zralou chrupavku hyalinního typu se zřetelně formovanou povrchovou vrstvou, která je někdy také označována jako kambiová vrstva. Ani u tohoto případu však nebyly zřetelně vytvořeny sloupce chrupavkových buněk ani vrstva mineralizované kloubní chrupavky. Inkompletní také bylo tzv. kostní plató naléhající na spodní, tj. kostní plochu kloubní chrupavky. Toto zjištění nejspíše nasvědčuje tomu, že doba jednoho roku je příliš krátká, než aby mohlo dojít ke kompletní přestavbě nově vznikající nezralé chrupavkové tkáně v chrupavku hyalinní, která by měla navíc mít vytvořeny všechny zóny typické pro kloubní chrupavkový kryt. Proces přestavby přitom zřejmě probíhá v takovémto terénu velice živě jak o tom svědčil nálezy poměrně četných osteoklastů na hranici mezi kostní a chrupavkovou komponentou.

Naše nálezy zároveň ukazují, že nosič ve formě derivátu kyseliny hyaluronové je dobře resorbovatelný. Ve většině případů (6 pacientů) jsme nikde nezaznamenali jeho zbytky. U dvou nemocných jsme však našli drobná ložiska makrofágů obsahující ve své cytoplazmě bazofilní materiál, odpovídající nejspíše zbytkům této hmoty, která má v implantátu strukturu charakteru nepravidelně orientovaných vláken, jak jsme si ověřili histologickým vyšetřením zbytků materiálu původně určeného k implantaci. V jednom z těchto dvou případů jsme navíc viděli i drobná granula podobného charakteru v cytoplazmě některých chondrocytů. Není tedy vyloučeno, že část materiálu nosiče je degradována přímo chondrocyty. Na základě těchto nálezů lze předpokládat, že degradace materiálu nosiče je z valné části ukončena přibližně během 10 měsíců u valné většiny pacientů, u nichž byla transplantace tkáňové kultury chondrocytů realizována.

V práci švédské skupiny z roku 2002 je hodnocen soubor 61 pacientů léčených klasickou transplantací autologních chondrocytů s periostálním štěpem pro izolovaný defekt kondylu femuru nebo pately (24). U 11 pacientů (12 defektů) byly při kontrolní artroskopii v průměru 54,3 měsíce po transplantaci odebrány bločky v plné tloušťce kloubní chrupavky se subchondrální kostí z centrální části ložiska a z okolní normální chrupavky k histologickému vyšetření. Osm z 12 vzorků odpovídalo hyalinní tkáni a zbývající vazivové tkáni. Biopsie označené jako hyalinní chrupavka měly pozitivní barvení na safranin a organizovanou strukturu v polarizovaném světle. Ve vzorcích byla patrná ložiska se shluky buněk a kloubní povrch lemovaly vazivové struktury, pravděpodobně představující zbylý periost. Hyalinní chrupavka se barvila na kolagen typ II v pře-

vládající části tkáně (> 50%). Vazivové oblasti obsahovaly kolagen typu I.

V multicentrické studii italské skupiny byla odebrána biopsie u 22 pacientů v průměru 15,2 (10-30) měsíce po ošetření defektu Hyalograftem C (18). Při histologickém rozboru se u 12 vzorků novotvořená tkáň podobala hyalinní chrupavce, kde byly pozorovány kulaté chondrocyty v typických lakunách, 6 biopsií bylo klasifikováno jako směs hyalinní a vazivové chrupavky a 4 jako vazivová chrupavka. Mezi vzorky odebranými déle než 18 měsíců po implantaci měla novotvořená tkáň častěji vzhled hyalinní chrupavky než mezi vzorky odebranými dříve po operaci (83,3 % a 43,8 %). Žádná biopsie odebraná déle než 18 měsíců po operaci nebyla histologicky hodnocena jako vazivová chrupavka. Všechny vzorky ukázaly dobrou integraci novotvořené tkáně se subchondrální kostí.

Bartlett získal biopsii od 11 z 47 pacientů ze skupiny s nosičem z kolagenu 1 rok po operaci (2). Histologický nálezy byl hodnocen jako hyalinní chrupavce podobná nebo smíšená chrupavka pouze u 4 pacientů (36,4 %). Výskyt hyalinní podobné a smíšené chrupavky je nižší než u publikovaných studií s klasickou technikou transplantace autologních chondrocytů (3, 15, 25). Podobně jako v naší studii byly vzorky odebírány poměrně brzo po operaci.

Studie naznačují, že ještě po 1 roce dochází k dalšímu vyzrání a remodelaci novotvořené chrupavky, a proto v biopsiích odebraných po 2 až 3 letech lze předpokládat častější nálezy hyalinní chrupavky.

Interpretace histologických nálezů v publikovaných pracích není zcela jednotná. Liší se způsob odběru vzorků, většinou je odebrán malý vzorek tkáně pouze z jednoho místa, při hodnocení histologických nálezů nejsou stanovena jednotná kritéria, proto hodnocení novotvořené tkáně se mohou lišit (21, 24). V roce 2002 doporučila ICRS komise vytvoření bodovacího systému hodnocení reparace chrupavky.

Kontroverzní jsou názory na použití fibrinového lepidla při transplantaci chondrocytů. Nejasný je účinek fibrinového lepidla na transplantované chondrocyty. Na základě zjištění, že chondrocyty nemohou do lepidla migrovat Brittberg a kolektiv usoudili, že tento materiál není vhodný jako nosič pro léčení osteochondrálních defektů (5). Bartlett používal fibrinové lepidlo k fixaci kolagenní membrány ke spodině defektu a nepozoroval škodlivý vliv fibrinového lepidla na integraci štěpů k subchondrální kosti (2). Domnívá se proto, že škodlivý vliv je malý. Přesto doporučuje opatrnost při jeho použití. Višňa a kolektiv použili fibrinové lepidlo přímo jako nosič chondrocytů a negativní vliv na chondrocyty neudávají (30). My jsme aplikovali pouze malé množství fibrinového lepidla po obvodu štěpu k zlepšení jeho fixace. Na spodinu defektu pod štěp jsme fibrinové lepidlo neaplikovali. Italská skupina u většiny pacientů (55 %) fibrinové lepidlo nepoužila (18).

Hypertrofii štěpu jsme pozorovali pouze u jednoho pacienta. Tato hypertrofie nebyla symptomatická a byla

zjištěna až při plánované kontrolní artroskopii. Bartlett udává při použití nosiče z kolagenu symptomatickou hypertrofii štěpu u 6 % pacientů (u 1 pacienta za 6 měsíců po operaci a u 2 za 12 měsíců po operaci) (2). Při klasické transplantaci s použitím periostu udává Peterson u 26 % pacientů hypertrofii štěpu a u 10 % pacientů vznik intraartikulárních adhezí (25). Další autoři udávají počet reoperací pro hypertrofii štěpu a adheze po klasické transplantaci s periostálním štěpem mezi 18 % až 25 %.

Žádné uvolnění štěpu a dobré vyplnění defektu u většiny našich pacientů svědčí pro jeho dobrou stabilitu v defektu. V multicentrické studii s Hyalograftem C (141 pacientů) je udáváno selhání štěpu u 5,2 % pacientů (18). Při použití nosiče z kolagenu pozoroval Bartlett uvolnění štěpu u 4 % pacientů (2). U klasických transplantací s periostem je udáváno selhání štěpu mezi 5 % až 11 % (15, 25).

V italské multicentrické studii byla v souvislosti s použitím Hyalograftu C zaznamenána komplikace pouze u 4 pacientů, 3 pacienti udávali pooperačně mírnou teplotu, u jednoho z nich byla spojena se synovialitidou, která po běžné terapii ustoupila a nezanechala žádné následky. U jednoho pacienta byla 20 měsíců po operaci při MR vyšetření zjištěna pod štěpem osteonekróza. Počet komplikací po použití Hyalograftu C je velmi malý. Většinou ustoupí spontánně nebo jsou snadno řešitelné. Významné je srovnání s klasickou transplantací chondrocytů s použitím periostu, kde je výskyt komplikací udáván mezi 20 %–30 %. Komplikace jsou způsobeny větší invazivitou operace a použitím periostálního štěpu.

ZÁVĚR

Na základě našich výsledků usuzujeme, že použití Hyalograftu C je bezpečná a účinná možnost ošetření hlubokých chondrálních defektů kolenního kloubu, zejména defektů na kondylech femuru. Metoda je vhodná pro pacienty kde první ošetření defektu selhalo (reoperace). Za 10 měsíců po operaci došlo k vyplnění defektu smíšenou hyalinní a vazivovou chrupavkou u všech pacientů. Poměrně rychlá a snadná aplikace Hyalograftu C do defektu zkracuje dobu operace, což je výhodné zejména při kombinaci s jinými operacemi (rekonstrukce vazů, osteotomie). Ve spojení s touto operací se v našem souboru nevyskytly žádné komplikace. Definitivní zhodnocení metody bude možné až na základě dlouhodobých výsledků.

Literatura

1. ADAM, M., POHUNKOVÁ, H., KLÉZL, Z., PEŠÁKOVÁ, V., ČECH, O.: Využití bioimplantátu k náhradě chrupavky. II. část: Použití implantátu v pokuse na zvířeti. *Acta Chir. orthop. Traum. čech.*, 64: 207–211, 1997.
2. BARTLETT, W., SKINNER, J. A., HOLDING, C. R., CARRINGTON, R. W. J., FLANAGAN, A. M., BRIGGS, T. W. R., BENTLEY, G.: Autologous chondrocyte implantation versus matrix-induced autologous chondrocyte implantation for osteochondral defects of the knee. *J. Bone Jt Surg.*, B-87: 640–645, 2004.
3. BRITTBERG, M., LINDAHL, A., NILSSON, A., OHLSSON, C., ISAKSON, O.: Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation. *N. Engl. J. Med.*, 331: 889–895, 1994.
4. BRITTBERG, M., PETERSON, L., SJOGREN-JANSSON, E., TALLHADEN, T., LINDAHL, A.: Articular cartilage engineering with autologous chondrocyte transplantation: A review of recent developments. *J. Bone Jt Surg.*, A-85 (Suppl. 3): 109–115, 2003.
5. BRITTBERG, M., SJOGREN-JANSSON, E., LINDHAL, A., PETERSON, L.: Influence of fibrin sealant (Tisseel) on osteochondral defect repair in the rabbit knee. *Biomaterials*, 18: 235–242, 1997.
6. BUCKWALTER, J. A., MANKIN, H. J.: Articular cartilage. Part II. Degeneration and osteoarthritis, repair, regeneration, and transplantation. *J. Bone Jt Surg.*, A-79: 612–632, 1997.
7. BUTLER, J. C., ANDREWS, J. R.: The role of arthroscopic surgery in the evaluation of acute traumatic hemarthrosis of the knee. *Clin. Orthop.*, 228: 150–152, 1988.
8. CURL, W. W., KROME, J., GORDON, E. S., RUSHING J., SMITH, B. P., POEHLING, G. G.: Cartilage injuries: A review of 31,516 knee arthroscopies. *Arthroscopy*, 13: 456–460, 1997.
9. GRIGOLO, B., ROSETI, L., FIORINI, M., FINI, M., GIAVARESI, G., ALDINI, N. N., GARDINO, R., FACCHINI, A.: Transplantation of chondrocytes seeded on hyaluronan derivative (HYAFF 11) into cartilage defects in rabbits. *Biomaterials*, 22: 2417–2424, 2001.
10. HANGODY, L., KISH, G., KARPATI, Z., UDVAHELYI, I., SZIGETI, IL, BELY, M.: Mosaicplasty for the treatment of articular cartilage defects: application in clinical practice. *Orthopedics*, 21: 751–756, 1998.
11. HORÁK, Z., SEDLÁČEK, R., ŘEZNÍČEK, J., PODŠKUBKA, A., VONDROVÁ, J.: Vývoj dotykového měřidla pro měření mechanických vlastností měkkých tkání. In: Summer Workshop of Applied Mechanics, Prague, Czech Technical University 2005, 66–70.
12. INTERNATIONAL CARTILAGE REPAIR SOCIETY. ICRS Cartilage Injury Evaluation Package. <http://www.cartilage.org>.
13. JOHNSON, L. L.: Arthroscopic abrasion arthroplasty historical and pathologic perspective: present status. *Arthroscopy*, 2: 54–69, 1986.
14. KNEE INJURY AND OSTEOARTHRITIS OUTCOME SCORE (KOOS). <http://www.koos.nu>.
15. KNUTSEN, G., ENGBRETSSEN, L., LUDVIGSEN, T. C. ET AL.: Autologous chondrocyte implantation compared with microfracture in the knee. *J. Bone Jt Surg.*, 86-A: 455–464, 2004.
16. LYSHOLM, J., GILLQUIST, J.: Evaluation of knee ligament surgery results with special emphasis on use of scoring scale. *Am J Sports Med.*, 10: 150–154, 1982.
17. MANKIN, H. J.: The response of articular cartilage to mechanical injury. *J. Bone Jt Surg.*, A-64: 460–466, 1982.
18. MARCACCI, M., BERRUTO, M., BROSCETTA, D., DELCOGLIANO, A., GHINELLI, D., GOBBI, A., KON, E., PEDERZINI, L., ROSA, D., SACCHETTI, G. L., STEFANI, G., ZANASI, S.: Articular Cartilage Engineering with Hyalograft C. 3-Year Clinical Results. *Clin. Orthop.*, 435: 96–105, 2005.
19. MESSNER, K., MALETIUS, W.: The long-term prognosis for severe damage to weight-bearing cartilage in the knee: a 14-year clinical and radiographic follow-up in 28 young athletes. *Acta orthop scand.*, 67: 165–168, 1996.

20. NEHRER, S., SCHATZ, K., BINDREITER, U., DOROTKA, R., KOTZ, R.: Matrix assisted chondrocyte transplantation using a hyaluronan matrix. 5th ICRS Symposium, Gent, Belgium, 2004
21. NEHRER S., SPECTOR, M., MINAS, T.: Histologic analysis of tissue after failed cartilage repair procedures. Clin. Orthop., 365: 149–162, 1999.
22. NEHRER, S, VAVKEN, P., DOROTKA, R., KOTZ, R.: Matrix-assoziierte Chondrozytentransplantation. Arthroskopie, 18: 203–208, 2005.
23. NOYES, F. R., BASSETT, R. W., GROOD, E. S., BUTLER, D. L.: Arthroscopy in acute traumatic hemarthrosis of the knee: incidence of anterior cruciate tears and other injuries. J. Bone Jt Surg., 62-A: 687–695, 1980.
24. PETERSON, L., BRITTBERG, M., KIVIRANTA, I., ET AL.: Autologous Chondrocyte Transplantation. Biomechanics and Long-Term Durability. Am J Sports Med., 30: 2–12, 2002.
25. PETERSON, L., MINAS, T., BRITTBERG, M. ET AL.: Two- to 9-year outcome after autologous chondrocyte transplantation of the knee. Clin. Orthop., 374: 212–234, 2000.
26. PETERSON, L.: Cartilage cell transplantation. In: Malek, M. M. (eds.): Knee surgery: complications, pitfalls, and salvage. New York, Springer 2001, 440–449.
27. PRIDIE, K. H.: A method of resurfacing osteoarthritic knee joints. J. Bone Jt Surg., B-41: 618–619, 1959.
28. SHAPIRO, F., KOIDE, S., GLIMCHER, M. J.: Cell origin and differentiation in the repair of full-thickness defects of articular cartilage. J. Bone Jt Surg., A-75: 532–553, 1993.
29. STEADMAN, J. R., BIGGS, K. K., RODRIGO, J. J., ET AL.: Outcomes of microfracture for traumatic chondral defects of the knee: average 11- year follow up. Arthroscopy, 19: 477–484, 2003.
30. VIŠŇA, P., PAŠA, L., HART, R., KOČIŠ, J., ČIŽMÁŘ, I., ADLER, J.: Terapie hlubokých chondrálních defektů kolena pomocí autologních kultivovaných chondrocytů na nosiči – výsledky po jednom roce. Acta Chir. orthop. Traum. čech., 70: 356–362, 2003.

Doc. MUDr. Aleš Podškubka, CSc.,
Učitelská 1570,
18200 Praha 8
E-mail: ales.podskubka@centrum.cz

Práce byla přijata 18. 4. 2006.