

UNIVERZITA KARLOVA
LÉKAŘSKÁ FAKULTA V PLZNI



DIZERTAČNÍ PRÁCE

Ošetření hlubokých defektů kloubní chrupavky transplantací autologních
chondrocytů

MUDr. Aleš Podškubka

Plzeň Praha 2006

Obsah

I. Obecná část

Přehled základních poznatků o kloubní chrupavce a současné možnosti terapie chondrálních defektů

1. Úvod	5
2. Funkce a struktura kloubní chrupavky	6
3. Poranění kloubní chrupavky a její reparační	8
4. Incidence lézí kloubní chrupavky	11
5. Klasifikace lézí kloubní chrupavky	12
6. Anamnéza a klinické vyšetření	13
7. RTG vyšetření	13
8. MR vyšetření	14
9. Artroskopické vyšetření	16
10. Histologické hodnocení reparační kloubní chrupavky	18
11. Možnosti konzervativní léčby	21
12. Možnosti operační léčby	22
12.1. Laváž a debridement	24
12.2. Laser a radiofrekvenční energie	24
12.3. Techniky stimulující kostní dřeň	25
12.4. Osteochondrální autologní štěpy	25
12.5. Osteochondrální alogenní štěpy	26
12.6. Periostální a perichondrální štěpy	27
12.7. Transplantace autologních chondrocytů	28
12.7.1. Operační technika	30
12.7.2. Možné peroperační problémy a jejich řešení	33
12.7.3. Řešení komplikací	35
12.7.4. Rehabilitace	36
13. Biomateriály pro transplantaci chondrogenních buněk	37
13.1. Biomateriály přirozeného původu	38
13.2. Biomateriály synteticky vyráběné	42
13.3. Shrnutí	44
14. Literatura	45

II. Vlastní práce

Ošetření hlubokých defektů kloubní chrupavky kolena transplantací autologních chondrocytů fixovaných na nosiči z esteru kyseliny hyaluronové (Hyalograft C) 49

1. Úvod a cíl 50

2. Soubor pacientů a metodika 52

3. Výsledky 55

4. Diskuse 58

5. Závěr 63

6. Obrazová příloha 64

7. Literatura 75

8. Souhrn v angličtině 78

III. Dokumentace 80

1. MR vyšetření 81

2. Vývoj dotykového měřidla tuhosti chrupavky 99

3. Peroperační nálezy, kontrolní artroskopie, histologie 103

4. Rehabilitace po transplantaci autologních chondrocytů 114

5. Dotazník IKDC 117

6. Dotazník KOOS 120

Motto:

Technika se vyvíjí od primitivního přes komplikované k jednoduchému

A. de Saint-Exupéry (1900-1944)

1. Úvod

Kloubní chrupavka je jedinečná tkáň, která je vystavena značné zátěži. Defekty kloubní chrupavky představují velký terapeutický problém. Příčinou je její malá regenerační schopnost. Defekt vzniklý při poškození kloubní chrupavky poraněním nebo degenerativním procesem má malou možnost se zhojit. Přestože není přesně znám přirozený vývoj izolovaného defektu chrupavky, předpokládá se, že se v důsledku další zátěže mohou postupně zvětšovat a hrát roli v rozvoji artrózy. Zamezit zvětšování defektu, podpořit hojení nebo hyalinní chrupavku v defektu znovu vytvořit je úkol výzkumných projektů v této oblasti. Cílem je vyplnit tyto defekty chrupavkou nebo chrupavce podobnou tkání, obnovit kloubní funkci, snížit invaliditu a oddálit potřebu endoprotetických náhrad.

Současné vědecké úsilí je zaměřeno na další zlepšení klinických a histologických výsledků stávajících biologických rekonstrukčních postupů. Různé, převážně interdisciplinární dílčí kroky k in vitro výrobě biologických implantátů pro rekonstrukční chirurgii se shrnují do pojmu „tkáňové inženýrství“ („tissue engineering“). Z vědeckého pohledu se pod tímto pojmem rozumí umělá výroba bioarteficiálních materiálů nebo tkání z žijících buněk.

Základním předpokladem pro úspěšné klinické použití biologických náhrad je tvoření funkce schopné chrupavčité matrix, která je schopná v defektu fúzovat se zdravou okolní tkání a jejíž biomechanické vlastnosti jsou dlouhodobě srovnatelné s hyalinní kloubní chrupavkou. Podle výsledků in vitro a in vivo studií je k tomu potřebný dostatečný počet vitálních chrupavku tvořících buněk ve fenotypicky stabilním funkčním stavu a ve vhodné primární matrix. Primární matrix, tedy nosný materiál, slouží buňkám díky svému prostorovému uspořádání jako dočasná vodící struktura a do chvíle resorpce nosiče jako místo syntézy vlastní matrix. Funkční vlastnosti buněk (fenotyp) jsou ovlivňovány především prostřednictvím interakcí mezi buňkami a matrix. Na kvalitu novotvořené tkáně má významný vliv složení nosných materiálů. Používané nosné materiály proto představují podstatný parametr pro přípravu funkčního chrupavčitého transplantátu. V současné době se in vitro a in vivo zkoušejí různé nosné materiály, přičemž se v podstatě používají buď přirozeně se vyskytující makromolekuly nebo odbouratelné syntetické polymery.

V předložené přehledové práci jsou uvedeny základy biologie chrupavky, vyšetření a hodnocení poškození a reparace kloubní chrupavky, přehled možností terapie defektů chrupavky a v souvislosti s tím přehled o aktuálním stavu znalostí různých biomateriálů používaných pro rekonstrukci chrupavky.

2. Funkce a struktura kloubní chrupavky

Vývoj náhrad kloubní chrupavky vyžaduje pochopit její komplexní a vysoce uspořádanou strukturu. Kloubní chrupavka je hyalinní chrupavka. Plní dvě důležité funkce, přenáší zátěž v kloubu a rozkládá tlak na hlouběji uloženou subchondrální kost a poskytuje kloubům nízké tření na povrchu umožňující hladký klouzavý pohyb. Hyalinní chrupavka je avaskulární a aneurální tkáň složená z malého množství buněk, chondrocytů, a z vysoce hydratované mezibuněčné hmoty. Výživa je zajišťována primárně difuzí ze synoviální tekutiny. Základními stavebními prvky mezibuněčné hmoty (extracelulární matrix) jsou makromolekuly proteoglykanů uložené v síti kolagenních vláken.

Kolagen je vláknitá bílkovina, která v tkáních vytváří fibrily o různém průměru. Tvoří až 70% suché váhy normální chrupavky. Více jak 90% kolagenu v zralé kloubní chrupavce tvoří kolagen typu II, kolageny typu V, VI, IX, X, XI se vyskytují pouze v malém množství, hovoříme o tzv. minoritních kolagenech. Kolagen typu II tvoří v prostoru struktury podobné trojitě šroubovici. Fungují jako konstrukce, která fixuje a imobilizuje proteoglykany v extracelulární matrix. Kolagenní vlákna zajišťují tvar chrupavky a její pevnost v tahu.

Proteoglykany tvoří asi 12% celkové hmotnosti chrupavky (2%-35% suché váhy) a jsou hlavními makromolekulami vyplňujícími prostor mezi kolagenními fibrilami. Proteoglykany jsou složeny z centrálního strukturálního proteinu (vazebná bílkovina, core protein) na kterou jsou navázány řetězce glykosaminoglykanů. Glykosaminoglykany obsahují karboxylové a/nebo sulfátové skupiny (keratansulfát a chondroitinsulfát), které mají negativní náboj. Řetězce chondroitinsulfátu a keratansulfátu obsahují velké množství opakujících se negativně nabitých sulfátových a karboxylových skupin. Negativní náboj glykosaminoglykanů je zodpovědný za velkou afinitu chrupavčité tkáně k vodě, která zvyšuje její odolnost proti tlakovému zatížení. Navíc, sousední negativně nabitě větve agreganů se navzájem odpuzují, což jim umožňuje zaujmout největší možný prostor. Toto udržuje proteoglykany uvnitř kolagenní sítě a zajišťuje pružnost a tlakovou odolnost chrupavky.

Na jednom konci obsahuje core protein specifické vazebné místo (link protein) obsahující disulfidové můstky. Pomocí tohoto místa se makromolekuly proteoglykanů váží na kyselinu hyaluronovou. Kromě těchto velkých proteoglykanů, tzv. agreganů, obsahuje mezibuněčná základní hmota ještě malé proteoglykany. Mezi ně patří biglykan a decorin. Obsahují zvláštní glykosaminoglykan dermatansulfát.

Voda tvoří asi 65% až 80% celkové hmotnosti kloubní chrupavky a její obsah závisí na zatížení a na stupni degenerativních změn. Prostřednictvím její silné afinity k negativně

nabýtvým proteoglykanům pomáhá chrupavce odolávat velmi silné tlakové zátěži. Tato odolnost k zátěži je závislá na stlačování vody. Velikost pórů v matrix určovaná koncentrací proteoglykanů rozhoduje o propustnosti tkáně a jejím třecím odporu průtoku. Voda se také podílí na lubrikaci kloubu a na transportu živin.

Chondrocyty tvoří přibližně 5% (1%-10%) celkového objemu normální dospělé kloubní chrupavky a jsou zde jediným typem buněk. Chondrocyty postrádají přímý mezibuněčný kontakt a komunikují mezi sebou prostřednictvím mezibuněčné hmoty. Jejich metabolismus je ovlivňován faktory v jejich okolí, jako jsou solubilní mediátory (např. růstové faktory, interleukiny), dále složením matrix, mechanickým zatížením, hydrostatickým tlakem a elektromagnetickým polem. Vzhledem k relativnímu nedostatku kyslíku v okolí chondrocytů je jejich metabolismus především anaerobní. Protože chondrocyty syntetizují veškeré makromolekuly extracelulární matrix (kolagenní fibrily, proteoglykany a nekolagenní proteiny) a také degradativní enzymy normální kloubní chrupavky, jsou důležité v řízení regenerace a remodelace chrupavky.

Kromě vody, proteoglykanů a kolagenu obsahuje mezibuněčná hmota nekolagenní bílkoviny jako anchorin a fibrinektin, které zajišťují interakce mezi chondrocyty a dalšími složkami mezibuněčné hmoty a dále tzv. chrupavkovou oligomerickou vysokomolekulární bílkovinu (cartilage oligomeric high-molecular weight matrix protein), která se účastní reparačních procesů. Další složkou mezibuněčné hmoty jsou cytokiny, které zajišťují signalizaci mezi chondrocyty a základní hmotou. Patří sem IL-1, IL-1beta, IL-6, TNF-alfa a interferony. Ve výčtu látek obsažených v základní mezibuněčné hmotě nesmíme opomenout enzymy, které štěpí makromolekulární složky mezibuněčné hmoty. Tyto enzymy patří mezi metaloproteinázy. Jsou produkovány chondrocyty v inaktivním stavu a v mezibuněčné hmotě je aktivuje plazmin a stromelyzin. Základní metaloproteinázy jsou tři. Metaloproteináza-1 (kolagenáza) štěpí kolagen I, II a X. Metaloproteináza-2 (želatináza) štěpí kolagen X a metaloproteináza-3 (stromelyzin) štěpí kolageny IX a XI a aktivuje ostatní dvě metaloproteinázy. Aktivita metaloproteináz je inhibována malým proteinem TIMP (tissue inhibitor of metaloproteinaze), který se pro svou malou velikost může volně pohybovat a korigovat aktivitu metaloproteináz. V nepatrném množství jsou v mezibuněčné hmotě zastoupeny ještě minerály, aminokyseliny a glukóza.

Podle uspořádání můžeme kloubní chrupavku rozdělit do čtyř vrstev (zón). Vrstva I (povrchová) je nejtenčí, kolagenní vlákna v ní probíhají paralelně s kloubním povrchem a chondrocyty mají výrazně eliptický tvar s delším průměrem ve směru kolagenních vláken. Vrstva II (střední, přechodná) obsahuje plexiformě probíhající kolagenní vlákna, chondrocyty

nabývají sférický tvar a jsou rozmístěny nepravidelně. Ve vrstvě III (hluboká, radiální) jsou kolagenní vlákna uspořádána radiálně a chondrocyty, které mají tvar podobný jako ve vrstvě II, jsou uspořádány do sloupců. Následuje tenká vrstva IV, kterou tvoří kalcifikovaná chrupavka s jen malým množstvím chondrocytů. Přechod mezi vrstvou III a IV se nazývá tide-mark. Pod vrstvou IV se nachází subchondrální kost. Toto uspořádání platí pro dospělou chrupavku, dětská chrupavka neobsahuje tide-mark.

Z embryologického hlediska se kloubní chrupavka formuje z mezenchymálních buněk, které se shlukují a syntetizují matrix. Tyto buňky se začínají organizovat a nabývají charakteristického sférického tvaru. Histologicky mohou být poznány jako chrupavčité buňky po akumulaci dostatečného množství mezibuněčné matrix, která od sebe jednotlivé buňky oddělí. Tato nezralá chrupavka obsahuje mnohem víc buněk než zralá tkáň, počet buněk na jednotku objemu je větší. Vedle větší buněčnosti vykazuje tato nezralá chrupavčitá tkáň zvýšenou normální mitotickou aktivitou. Ve srovnání s kloubní chrupavkou dospělých zvířat, ustává mitotická aktivita se vznikem dobře definované kalcifikované zóny (tide-mark) a u některých druhů s uzavřením epifyzární ploténky. Nedostatek pluripotentních buněk schopných migrace, proliferace a účasti na reparačních mechanismech uvnitř zralé chrupavky omezuje její hojivý potenciál. Navíc mají zralé chondrocyty pouze limitovanou schopnost zvýšit syntézu komponent matrix, potřebnou k reparaci defektů tkáně. Existuje naprogramované buněčné stárnutí, proto s věkem klesá syntéza některých proteoglykanů a klesá schopnost zvýšit buněčné dělení jako odpověď na stimulaci.

Zdravá kloubní chrupavka dospělého jedince je schopna tolerovat zátěž, která několikanásobně převyšuje vlastní váhu těla. Jedinečným způsobem kombinuje absorpci tlakové zátěže s neobyčejně nízkým koeficientem tření. Tímto způsobem je významně redukováno zatížení subchondrální kosti. Tyto vlastnosti zajišťují kaskádovitě uspořádané hyalinní chrupavce vrcholně významné postavení mezi různými strukturami v kloubu.

3. Poranění chrupavky a její reparace

Dlouhodobé následky lokalizovaného poranění chrupavky jsou závislé na přeživších chondrocytech a matrix. Konečné následky jsou ovlivněny rozsahem, hloubkou a lokalizací poranění. Mechanická poranění kloubní chrupavky při kterých jsou poškozeny pouze komponenty matrix bez poškození chondrocytů mají hojivý potenciál, nepoškozené chondrocyty mohou syntetizovat novou matrix a obnovit normální vlastnosti chrupavky. Pokud však destrukce postihne všechny komponenty kloubní chrupavky včetně chondrocytů,

je spontánní náprava poškozené tkáně limitována a k obnovení normální kloubní chrupavky nedojde. Trauma kloubní chrupavky, které překročí kritickou hranici způsobuje snížení její viskoelasticity a tuhosti. V důsledku toho dochází k přenášení větší zátěže na subchondrální kost, která reaguje následujícím zesílením a ztuhnutím. Zvýšená tuhost subchondrální kosti je příčinou větší zátěže chrupavky, což dotváří zhoubný okruh chrupavčité degenerace.

Nejtenčí částí kloubní chrupavky je povrchová zóna, která funguje jako bariéra, bránící pohybu molekul mezi synoviální tekutinou a chrupavkou. Tato zóna se typicky skládá ze dvou vrstev. Mac Conaill popsal na kloubním povrchu světlou vrstvu viditelnou ve fázovém kontrastu a nazval ji „lamina splendens“. Tato část povrchové zóny pokrývá kloubní povrch a odpovídá adherentnímu průhlednému filmu, který je možné mechanicky sloupnout z hlouběji uložené vrstvy povrchové zóny. Skládá se z jemných vláken s malým množstvím polysacharidů bez přítomnosti buněk. Hlouběji se nacházejí elipsoidní chondrocyty, které jsou orientovány paralelně s kloubním povrchem. Tato hlubší vrstva má vysokou koncentraci kolagenu a nízkou koncentraci proteoglykanů. Fibrily dávají této zóně větší tahovou pevnost než mají hlubší zóny kloubní chrupavky.

Odstranění povrchové zóny zvyšuje permeabilitu tkáně a pravděpodobně zvyšuje zátěž makromolekulární sítě během komprese. Ukázalo se, že poškození nebo přestavba denzní (husté) kolagenní matrix v povrchové zóně je jednou z nejdříve detekovaných strukturálních změn při experimentálně navozené degeneraci kloubní chrupavky. To naznačuje, že změny v této zóně přispívá k rozvoji osteoartrózy změnou mechanických vlastností tkáně. Poškození této zóny může vést k uvolnění molekul z chrupavky do synoviální tekutiny, což může vyvolat imunitní nebo zánětlivou odpověď. Lamina splendens a pod ní uložená vrstva denzních kolagenních fibril jsou příkladem specifické organizace kloubní chrupavky, kterou je obtížné obnovit nebo nahradit syntetickou tkání.

Kloubní chrupavka je oddělena od dřevných buněk denzní subchondrální kostí a proto nemá přístup k její vaskulární síti. Chybějící cévní zásobení je příčinou neschopnosti se sama hojit. Obvyklá odpověď na poranění, která se odehrává v jiných tkáních je závislá na krvácení, vytvoření fibrinové sraženiny a mobilizaci buněk, důležitých mediátorů a růstových faktorů. Trauma, které poškodí chondrocyty a extracelulární matrix, ale nepronikne subchondrální kostí, má velmi malou šanci na zhojení.

Jediná spontánní hojivá reakce, kterou můžeme zaznamenat u povrchových lézí kloubní chrupavky, je přechodná proliferace chondrocytů v blízkosti okraje defektu. Podobné shluky buněk byly zachyceny v počátečních stádiích osteoartrózy a byly popsány jako buněčné klony. Jejich velikost zůstává omezená, výrazněji neproliferují do prázdného

prostoru léze a ani neprodukuje adekvátní extracelulární matrix (plně shodnou s normální).

V lézích postihujících všechny vrstvy a v osteochondrálních lézích, kde je subchondrální ploténka poškozena, dochází k reparační odpovědi, která zahrnuje vznik fibrinové sraženiny, migraci buněk z kostní dřeviny a prorůstání cév. Větší osteochondrální léze jsou často vyplněny vazivovou chrupavkou, která se skládá hlavně z kolagenu typu I. Mohou se vyvinout zaoblené formy buněk, které jsou podobné chondrocytům a v určitých částech defektu mohou dokonce syntetizovat kolagen typu II. Reparační tkáň je obvykle směs vaziva, vazivové chrupavky a hyalinní chrupavky. Tato reparační tkáň se od normální kloubní chrupavky liší nižší organizovaností, větší cévnatostí a biochemickými rozdíly v obsahu vody, proteoglykanů a jednotlivých typů kolagenu. Z mechanického hlediska je reparační tkáň méně odolná a má jinou strukturu.

Aby byla regenerace dokonalá, musí se z přítomných buněk vyvinout zralé chondrocyty schopné obnovit biochemickou a mechanickou integritu kloubního povrchu. Primitivní mezenchymální buňky si zachovávají schopnost diferenciaci do specifických buněčných typů. Tyto buňky se nacházejí v kostní dřeviny, periferní krvi, perichondriu, periostu, pokožce, svalch a růstové ploténce. Můžou se diferencovat v osteoblasty, fibroblasty nebo chondroblasty v závislosti na lokálních a systémových stimulech. S věkem se počet těchto buněk postupně snižuje. Mohou růst a množit se v podmínkách tkáňové kultury. Tyto buňky mohou být implantovány do chondrálního nebo osteochondrálního defektu, kde mohou projevit zvýšený potenciál pro reparaci a regeneraci. Současný výzkum se zaměřuje na indukci diferenciaci těchto transplantovaných buněk ke zralým chondrocytům, které podpoří formaci hyalinní chrupavky.

Růstové faktory jsou polypeptidy, které účinkují parakrinně a mají mnoho různých regulačních efektů. Na buňky působí navázáním na jejich povrchové receptory. Byly identifikovány různé faktory např. fibroblastický růstový faktor, PDGFs, IGFs, TGFs, BMPs. Tyto faktory mají vliv na různé funkce buněk např. migraci, proliferaci, syntézu matrix a diferenciaci. Vliv je závislý na jejich koncentraci, přítomnosti kofaktorů, typu cílových buněk a počtu dostupných buněčných receptorů.

Kostní morfogenetické proteiny (BMPs) patří do superrodiny TGF (transforming growth factors). Bylo popsáno více než tucet členů rodiny BMP. Každý z nich má rozdílný účinek na specifické typy kost a chrupavku tvořících buněk. Typy 2 až 7, které byly nalezeny v extraktu demineralizované kosti, mají schopnost indukovat tvorbu chrupavky a kosti na heterotopických místech. Některé studie prokázaly regulační roli BMP proteinů v iniciaci (zahájení) diferenciaci chrupavky a kost tvořících buněk z pluripotentních mezenchymálních kmenových buněk.

Zejména rekombinantní humánní BMP-2 se ukazuje být těsně spojen s růstem a diferenciací mezenchymálních buněk v chondroblasty a osteoblasty ve vyvíjejících se končetinových pupenech. Dále se objevují důkazy, že tyto proteiny mají účinky na diferenciaci a proliferaci buněk v embryogenezi, které jsou závislé na přítomnosti cílových buněk a na momentálních podmínkách okolního prostředí. Sellers studoval efekt rhBMP-2 na hojení celovrstvého osteochondrálního defektu u králíků. Výsledky ukázaly velmi rychlou formaci nové subchondrální kosti a došlo ke zlepšení histologického vzhledu kloubní chrupavky. Po 24 týdnech dosahovala tloušťka hojící se chrupavky 70% tloušťky přilehlé normální chrupavky. Imunoanalýzou kolagenu typu II se prokázala jeho difuzní přítomnost v reparační chrupavce léčeného defektu. Leitman a kol. studoval vliv rhBMP-7 na syntézu, uvolňování a udržování proteoglykanů v kultivovaném fragmentu kloubní chrupavky udržovaném v chemicky definovaném mediu bez přítomnosti séra. Autoři našli 70%-120% vzestup syntézy po 7-10 dnech v kultuře a pokles uvolňování proteoglykanů z fragmentu kloubní chrupavky. V důsledku došlo v extraktech léčených pomocí BMP-7 k přírůstku v obsahu proteoglykanů.

K úspěšné manipulaci s okolním mikroprostředím, která vede k nastartování nebo zvýšení syntézy náhradní chrupavky s charakteristikou podobnou hyalinní chrupavce, bude potřeba dalších preklinických a klinických pokusů.

Stimulace reparace povrchové léze chrupavky je obtížnější, protože kloubní chrupavka obsahuje dermatansulfát a jiné proteoglykany, které udělují povrchu chrupavky antiadhezivní vlastnosti. Toto brzdí schopnost reparačních buněk nebo tkáně navázat se na povrch léze. Iniciálním ošetřením povrchu defektu enzymem chondroitinázou ABC (rozkládá antiadhezivní proteoglykany) a přidáním fibrinové sraženiny a mitogéních růstových faktorů (zejména TGF- β 1 nebo bazický fibroblastický růstový faktor) může být dosaženo překrytí defektu mezenchymálními buňkami ze synovie. Tato hojivá odpověď generuje spíše než chrupavku fibrózní pojivou tkáň. Do dneška se touto metodou nepodařilo vytvořit náhradu kloubní chrupavky, která by byla klinicky použitelná. Exaktní obnova složení matrix a její struktury a obnovení komplikovaných interakcí mezi chondrocyty a jejich matrix je základním aspektem potřebným k vytvoření náhrady kloubní chrupavky.

4. Incidence lézí kloubní chrupavky

Celková incidence lokalizovaných symptomatických a asymptomatických traumatických lézí kloubní chrupavky je neznámá. Klinicky se může izolované trauma kloubní chrupavky projevit až po určitém čase. Navíc schopnost standardních RTG a MR

vyšetření zobrazit povrchní a menší hluboké léze je omezená. Poranění kloubní chrupavky kolena jsou obvykle zjištěna při artroskopii. Dokonce i při artroskopickém vyšetření se poškozené místo kloubní chrupavky může zpočátku jevit jako intaktní bez zjevných patologických změn a teprve později degeneruje.

Předpokládá se, že 5% až 10% všech pacientů s akutním poúrazovým hemartrosem kolena má hluboký defekt kloubní chrupavky. V retrospektivní studii, která hodnotila 31 516 artroskopií kolena, našel Curl a kol. poškození chrupavky u 63% pacientů. Přestože se léze nacházely difúzně ve všech třech kompartmentech kolena, nejčastější lokalizací byla patela a mediální kondyl femuru, přičemž u 5% pacientů bylo nalezeno postižení mediálního kondylu femuru IV. stupně. U pacientů, kteří podstoupili rekonstrukci předního zkříženého svalu, našel Bach a kol. chondromalacii pately v 31% případů a změny na mediálním kondylu femuru v 33% případů. Naštěstí je většina poškození kloubní chrupavky, nalezených při artroskopii, pouze incidentální a často v souvislosti s poraněním menisků a vazů. Jedná se typicky o malé nehluboké léze, které jsou často symptomatické.

Ortoped je při artroskopii často postaven před dilema a musí rozhodnout, které léze ponechá pouze k observaci a které vyžadují léčbu. Stále se debatuje nad možnostmi jejich nejlepšího řešení. Rozhodnutí, zda a jak léčit poškození chrupavky je založeno na biologických vlastnostech defektu chrupavky, ale také na faktorech na straně pacienta, kterými je věk, požadovaná úroveň aktivity a možnosti rehabilitace.

5. Klasifikace lézí kloubní chrupavky

V průběhu let bylo navrženo mnoho způsobů dělení chrupavčitých lézí. Pouze některé však byly používány v klinické praxi. Nejčastěji citovaný systém pro popis chondrálních lézí byl navržen Outerbridgem v roce 1961. Tento klasifikační systém je založen na popisu celkového vzhledu léze. Modifikovaná klasifikace dle Outerbridge, často používaná v literatuře, nezávisí na velikosti léze, ale je založena na hloubce poškození. Stupeň I je charakterizován změknutím a nabobtnáním povrchu chrupavky. Stupeň II je charakterizován povrchním rozvlákněním a přítomností povrchních trhlin. Stupeň III je charakterizován hlubokými trhlinami zasahujícími k subchondrální kosti. Stupeň IV znamená odkrytí subchondrální kosti. Outerbridgeovo dělení kombinované s popisem velikosti, tvaru a lokalizace defektu představuje excelentní metodu ke komunikaci o chrupavčitých poraněních.

6. Anamnéza a klinické vyšetření

Poranění kloubní chrupavky se může vyskytovat jako izolované poranění nebo může být spojeno s poraněním menisků a vazů. Pacienti s úrazovou anamnézou často udávají epizody dislokace pately, distorzi nebo kontuzi kolenního kloubu. Mohou udávat náhlou bolest a často popisují prasknutí v koleni. Jindy udávají neurčité bolesti s chronickými nebo intermitentními otoky. Nejčastějším symptomem je bolest, která může ale také nemusí být spojena s otoky nebo blokádami, které souvisí s přítomností volných kloubních myšek. Bolest závislá na aktivitě může ukázat na lokalizaci léze (například bolest při skocích nebo při extenční fázi kopnutí ukazuje na poškození pately nebo trochley, bolest při flekční fázi kopnutí ukazuje na lézi v zadní části kondylů). Klíčem k časné diagnóze je podezření založené na anamnéze a na mechanismu poranění. Johnson-Nurse a Dandy zjistili, že 95% pacientů udává bolesti, 76% otoky a 18 % blokády.

Výsledek klinického vyšetření u pacientů s kloubním poraněním je ovlivněn vážností sdružených poranění. Malé léze nemusí mít žádný lokální nález. Přítomnost kloubních krepitací poukazuje na závažnější lézi. Hemartros a přítomnost tukových částic jsou vysoce patognomické pro osteochondrální poranění, často v rámci akutní luxace pately. Noyes a kol. publikoval, že 20% pacientů s traumatickým hemartros a s minimální nestabilitou mělo fraktury chrupavky. Butler a Andrews našli u 11% pacientů s akutním hemartros při artroskopii osteochondrální fraktury. U pacientů s chronickým kloubním zraněním se může vyvinout na aktivitě závislý kloubní otok.

Osteofyty, nesprávná osa končetiny a kontraktury představují nepříznivé nálezy u pokročilé kloubní artrózy. Výsledek léčby lézí kloubní chrupavky u takových pacientů je nepředvídatelný. Zesílení synoviální výstelky a polyartikulární postižení poukazuje na zánětlivou artritidu, při které lze jen zřídka léčit chrupavčitou lézi jako izolované onemocnění.

7. Rtg vyšetření

Bylo učiněno mnoho pokusů k zlepšení rtg diagnostiky poranění kloubní chrupavky. Dle retrospektivních studií rtg vyšetření kolenních kloubů v zátěži nedokáže spolehlivě zjistit izolované defekty kloubní chrupavky, je však nezbytné k diagnostice globálních kloubních poškození a nesprávné osy končetiny. Zátěžové AP snímky ve flexi jsou použitelné k diagnostice zúžení chrupavky ve femorotibiálním kompartmentu. (primárně na flekčním povrchu femuru) a k diagnostice lézí při disekující osteochondróze.

8. MR vyšetření

Zájem o zobrazení chrupavky pomocí MR vyšetření se v poslední době z mnoha důvodů zvyšuje. Schopnost přesného zhodnocení kloubní chrupavky pomocí MR vyšetření s sebou přináší komplexnější informace důležité pro terapeutické rozhodování. Detekce defektů kloubní chrupavky pomocí MR vyšetření může vysvětlit obtíže u pacientů s izolovaným poraněním chrupavky, které jinak může uniknout detekci. Zvláště výhodná je identifikace poranění kloubní chrupavky pomocí MR vyšetření u pacientů s intaktními menisky, protože symptomy související s izolovaným defektem chrupavky jsou často shodné se symptomy u poškození menisku. Předoperační identifikace defektu zjednodušuje plánování způsobu operačního ošetření.

Hlavním důvodem zvýšeného zájmu o přesné zobrazení kloubní chrupavky je rozvoj transplantace kloubní chrupavky. Detekce defektů kloubní chrupavky je nezbytná pro výběr pacientů, pro které je tato terapie vhodná. MR vyšetření umožňuje na základě znalosti velikosti a lokalizace poškození kloubní chrupavky zhodnotit možnosti léčby před artroskopickým nebo chirurgickým výkonem. Navíc je možné MR vyšetřenou použít pro sledování pacientů po transplantaci chrupavky. MR vyšetření jako neinvazivní alternativa pro zhodnocení chrupavky je důležité u pacientů, kteří si nepřejí podstoupit kontrolní artroskopii.

Možnosti zobrazení kloubní chrupavky pomocí MR vyšetření se v posledních letech zdokonalují. Použití nových sekvencí, přijímacích cívek a gradientní technologie zlepšují kvalitu a rychlost zobrazení i prostorové rozlišení. Přesnost zhodnocení kloubní chrupavky pomocí MR vyšetření se výrazně zlepšila s vývojem zobrazovacích sekvencí vytvořených specificky pro hyalinní chrupavku. Dvě nejčastěji používané zobrazovací techniky jsou T1-vážená 3D gradient echo s potlačením tuku a T2-vážená rychlá echo (T2-weighted FSE imaging). Tyto dvě zobrazovací techniky mají různé výhody a nevýhody. T1-váženou 3D gradient echo s potlačením tuku je možné zachytit tenčí řezy, což je výhodné při identifikaci změn uvnitř chrupavky (morfologických defektů) a je vhodná k hodnocení síly a objemu chrupavky. T2-vážená rychlá echo je vhodnější k zobrazení lézí na povrchu chrupavky a otoku v kostní dřeni, je méně ovlivnitelná kovovými artefakty, což může být výhodné u pacientů po operacích s kovovými implantáty. Dosud nebyla zkoumána schopnost těchto technik přesně změřit velikost defektu, což může být důležité při volbě způsobu jeho ošetření. Obě tyto techniky byly ověřovány na pacientech při síle magnetického pole 1,5 Tesla. Při nižších silách pole lze očekávat nižší přesnost.

Vzhled kloubní chrupavky na MR obrazech může ovlivnit mnoho faktorů. V T1-vážené 3D gradient echo sekvenci s potlačením tuku má kloubní chrupavka uniformní

vysokou intenzitu signálu. Na zobrazeních je chrupavka bílá a tekutina tmavá. V centru chrupavky se mohou objevit artefaktní laminy s nízkým signálem. Tento artefakt je většinou snadno rozpoznatelný a nebrání vizualizaci chrupavčitého defektu a dokonce může být nápomocen při zjišťování hloubky defektu. Na zobrazeních v T2-vážené rychlé echo sekvenci je chrupavka tmavá a tekutina bílá. V chrupavce může zobrazit nonartefaktní obraz s laminární intenzitou signálu, způsobený převážně laminární orientací kolagenních vláken. Velikost a intenzita signálu lamel se mění při změnách zobrazovacích parametrů a při změnách orientace chrupavky ve vztahu k magnetickému poli. Další variabilita je způsobena anizotropií kolagenních vláken v jednotlivých vrstvách chrupavky. Zkušení radiologové jsou schopni poznat normální variace v laminárním uspořádání a proto nejsou tyto variace překážkou v detekci poškození chrupavky. Radiologové jsou schopni lépe diagnostikovat poranění kloubní chrupavky s narůstající zkušeností a pokud mají zpětnou vazbu v artroskopických nálezech referovaných ortopedem.

MR artrografie s aplikací kontrastní látky do kloubu není pro zhodnocení kloubní chrupavky obecně nutná. Přesnost MR artrografie není větší než zobrazovacích technik bez kontrastní látky. MR artrografie je však použitelná u pacientů, u kterých je nezbytné zhodnocení integrity kloubní chrupavky nad osteochondrálním defektem nebo je nutno identifikovat volná nitrokloubní tělíka.

V současné době dostupné techniky MR vyšetření umožňují přesnou detekci morfologických defektů v kloubní chrupavce. Zobrazení menších poranění s poškozením uvnitř chrupavky bez morfologických změn je však obtížnější. Pro časnou detekci poškození chrupavky bylo vyvinuto mnoho MR technik. Grossmann a kol. jako první referoval, že technika využívající ultra krátké echo časy má 100% senzitivitu a specificitu a signifikantně větší přesnost než 3D gradient echo sekvence s potlačením tuku. Domnívá se, že vysoká senzitivita této techniky je dána změnami signálu při dezorganizaci kolagenních vláken. Jiná skupina použila krátké echo časy ke zjištění protonového spektra v kloubní chrupavce.

Velkým příslibem do budoucnosti je možnost hodnotit matrix chrupavky. V případech kdy rozložení kontrastní látky je závislé na specifické makromolekule, může kontrastní látka sloužit k průkazu této makromolekuly. Metoda založená na tomto principu umožňuje zobrazit distribuci glykosaminoglykanů (GAG) v chrupavce. Nejčastěji používanou kontrastní látkou při MR vyšetření je Magnevist (gadolinium-diethylenetriamine pentaacetic acid, Gd-DTPA²⁻). Kontrastní látka se dostává do kloubu po nitrokloubní nebo nitrožilní aplikaci. Důležitou vlastností této látky je, že má negativní náboj. GAG v chrupavce obsahují hojné negativně nabitě karboxylové a sulfátové skupiny a proto kontrastní látku s negativním nábojem

odpuzují. Kontrastní látka proniká ve vyšší koncentraci do oblastí s nižším obsahem GAG a méně proniká do oblastí s vyšším obsahem GAG. Na základě distribuce Gd-DTPA² v chrupavce je tak možno stanovit množství GAG. Tato technika je nazývána „delayed Gadolinium Enhanced MRI of Cartilage“ (dGEMRIC). Klinické studie ukázaly, že dGEMRIC zobrazení zachytí léze chrupavky, které při použití neiontových kontrastních látek nejsou rozpoznatelné. Byly zjištěny rozdíly dGEMRIC indexu v různých kompartmentech kolena a u pacientů s osteoartrózou. dGEMRIC měření koncentrace GAG v chrupavce umožňuje hodnotit (sledovat) progresi onemocnění nebo léčebný efekt. Ve studiích po implantaci autologních chondrocytů se dGEMRIC obraz novotvořené chrupavky normalizoval na hodnoty okolní zdravé chrupavky po 6 měsících od operace. Jiná studie prokázala rozdíly mezi dobrovolníky, kteří pravidelně cvičili a osobami se sedavým způsobem života. Studie pacientů s kyčelní dysplazií prokázala jasnou korelaci mezi dGEMRIC indexem a bolestí a mezi dGEMRIC indexem a závažností dysplazie, korelace se zúžením kloubní štěrbiny však prokázána nebyla.

Jiná oblast současného výzkumu využívá výhod 3-dimenzionálních informací získaných při MR zobrazení kloubní chrupavky. Z takto získaných dat je možno vytvořit povrchové modely kloubní chrupavky. MR umožňuje velmi přesné měření objemu chrupavky a umožňuje kvantifikovat progresi artrózy. Studie uspořádání povrchu chrupavky poskytují informace o vlivu konfigurace povrchu chrupavky na progresi osteoartrózy. Předmětem dalšího výzkumu je zobrazení chrupavky po terapii. Pokračují studie normálního vzhledu a patologických změn novotvořené tkáně po reparaci chrupavky. Výsledky těchto studií umožní použití MR vyšetření jako neinvazivní techniky pro sledování výsledků náhrad kloubní chrupavky.

9. Artroskopické vyšetření

Poškození kloubní chrupavky je velice častým nálezem při artroskopickém vyšetření. Nejznámějším a nejčastěji užívaným systémem pro artroskopické hodnocení poškození kloubní chrupavky je dělení dle Outerbridge. Toto dělení je jednoduché. Dělí léze na 4 stupně. Je však třeba přesněji popsat hloubku a velikost léze spolu s popisem povrchu a kvality okolní chrupavky.

Artroskopické hodnocení hloubky defektu se provádí palpací speciálním háčkem, při hodnocení plošné velikosti defektu musí být popsána velikost celého defektu až k okrajům

zdravé chrupavky. Oakley udává velké rozdíly v přesnosti a malou spolehlivost při měření chrupavčitých lézí.

ICRS (International Cartilage Repair Society) založená v roce 1997 vytvořila jednoduchý standardní systém pro artroskopické hodnocení poškození a reparace kloubní chrupavky.

Hodnotíme ošetřené stabilizované léze po debridement s odstraněním uvolněných částí chrupavky. ICRS klasifikační systém je zaměřen na hloubku a typ poškození chrupavky. Důležité je popsat i ohraničení defektu, zda je defekt ohraničený zdravou chrupavkou po celém obvodu (containment) nebo je ohraničen pouze částečně (non containment).

ICRS klasifikační systém lézí hyalinní chrupavky:

- 0 makroskopicky normální chrupavka
- 1a minimální povrchní rozvláknění (fibrilace) či změknutí chrupavky
- 1b 1a + povrchní trhliny (lacerace, fisury)
- 2 defekt postihuje < 50% tloušťky chrupavky
- 3 defekt postihuje > 50% tloušťky chrupavky, ale neproniká skrze subchondrální kost
 - 3a nezasahuje zónu kalcifikované chrupavky
 - 3b zasahuje zónu kalcifikované chrupavky
 - 3c defekt proniká k subchondrální kosti, ale ne pod ní
 - 3d puchýře, defekt neproniká skrze subchondrální kost
- 4 defekt zasahuje pod subchondrální kost, osteochondrální defekt

Pro zjednodušení a zpřesnění popisu lokalizace defektu se používá nákres kloubní plochy kolenního kloubu, která je rozdělena ve frontální a sagitální rovině do jednotlivých sektorů. Jednotlivé sektory je možné souřadnicově popsat.

Artroskopické hodnocení reparace chrupavky:

Při posouzení reparace chrupavky se hodnotí 3 kritéria:

1. jaký objem defektu je reparovanou chrupavkou vyplněn
2. jak je reparovaná chrupavka integrována (spojena) s okolní chrupavkou
3. makroskopický vzhled povrchu chrupavky

Při hodnocení musíme vzít v úvahu způsob ošetření chrupavčitého defektu. Při některých způsobech ošetření dochází k výplni defektu postupně – návrtý, mikrofraktury, transplantace autologních chondrocytů (protokol A), jindy je defekt vyplněn bezprostředně při operaci - osteochondrální bločky (protokol B). Každé kritérium může být ohodnoceno maximálně 4 body / 0-4 /. Podle součtu bodů je reparace klasifikována do 4 stupňů (stupeň I - 12 bodů, stupeň II - 8 až 11 bodů, stupeň III - 4 až 7 bodů, stupeň IV - 0 až 3 body).

10. Histologické hodnocení reparace kloubní chrupavky

Kvalita chrupavčité tkáně je nejlépe hodnotitelná histologicky, ale existují i jiné metody, například MR vyšetření. Základem je však histologické vyšetření. Na základě histologického vyšetření byly vytvořeny různé bodovací systémy, většina z nich však vychází z hodnocení chrupavky na zvířatech, u kterých je k dispozici vždy vyšetření celého kloubu. Hodnocení reparace chrupavky je tímto samozřejmě limitováno.

K hodnocení stupně degenerativních změn a kvality hojení chrupavky byly používány různé histologické a histochemické systémy. Jedním z prvních bylo hodnocení dle Mankina a O'Driscolla, z kterých vycházely další modifikace. Hodnotily však příliš mnoho parametrů, údaje byly nereprodukovatelné a srovnávání výsledků obtížné. Proto je nepovažujeme za praktické a v současné době se nepoužívají. V roce 2001 ICRS založila „Histological Endpoint Committee“ s cílem vytvořit standardizovaný skórovací systém a webový morfologický katalog pro hodnocení reparace chrupavky (www.cartilage.org). V roce 2002 komise doporučila vytvoření bodovacího systému, který: (1) umožní hodnocení z malých vzorků lidské tkáně /bločky v plné tloušťce kloubní chrupavky se subchondrální kostí o průměru 2 mm/, (2) bude vizuální a každý parametr bude možno hodnotit proti řadě vzorků počtem bodů od nejnižšího k nejvyššímu, (3) bude modulární a bude jej možno kombinovat s dalšími systémy používanými v experimentech na zvířatech, kde jsou k hodnocení k dispozici celé klouby, (4) bude volně přístupný všem zájemcům o výzkum hojení kloubní chrupavky.

Histologické hodnocení založené na vizuálním porovnávání nálezů se vzorky zobrazenými v katalogu je jednodušší a spolehlivější než srovnávání nálezů založených na slovním popisu. Zároveň toto hodnocení umožňuje, aby jej využívali i lidé s menší zkušeností než pouze histologové odborníci na tuto problematiku.

Hodnotí se celkem 6 kritérií:

1. povrch - hladký, klouzavý povrch je základním rysem zdravé (normální) kloubní chrupavky;
2. matrix - jedinečná kombinace kolagenu a proteoglykanů v hyalinní chrupavce zabezpečuje správné viskoelastické vlastnosti kloubního povrchu;
3. distribuce buněk - uspořádání buněk do sloupců ve střední a hluboké vrstvě (zóně) chrupavky indikuje normální zralost chrupavky;
4. životaschopnost buněčné populace - populace živých buněk je nezbytná pro metabolismus (přeměnu) matrix;

5. subchondrální kost - subchondrální kost určuje geometrii kloubu a tak rozložení jeho zátěže;

6. mineralizace - mineralizace chrupavky je patologická změna a svědčí pro funkční poškození.

Nejvyšší skóre (3 body) se používá při ideálním nálezu (ideální výsledek hojení, novotvořená tkáň odpovídá věrně původní tkáni) a nejnižší skóre (0) se používá pro nejhorší výsledek hojení. Relativní důležitost jednotlivých kriterií není v současné době známá, proto by se skóre neměla sčítat.

Při hodnocení odebraných vzorků bylo zjištěno, že vzhledem k špatné technice odběru není možné u velkého množství vzorků (55%) kvalitu tkáně hodnotit. Komise proto stanovila dvě základní podmínky pro odběr tkáně: (1) musí být jasná orientace odběru (kde má vzorek vrstvu povrchovou a kde hlubokou), (2) vzorek musí obsahovat všechny vrstvy chrupavky, tj. včetně subchondrální kosti. Materiál na vyšetření má být odebrána z centra defektu či hodnocené oblasti kolmo na povrch kloubní plochy. K odběru je vhodné používat speciální bioptické jehly na jedno použití.

Velice důležitá je komunikace mezi histopatologem a ortopedem. Histopatolog by měl být informován o artroskopickém nálezu, lokalizaci a rozsahu defektu a způsobu terapie, u kontrolní artroskopie o době od operace a místě biopsie. Vhodná je fotodokumentace artroskopických nálezů.

Problémem je volba fixačního media pro transport vzorků mezi operátorem a histopatologem. Media obsahující aldehydy / formaldehyd, glutaraldehyd, paraformaldehyd, atd./ výrazně snižují hladinu proteoglykanů, v průměru o 15%. Při fixaci vzorků přípravky na bázi alkoholu a acetonu dochází také k snížení množství proteoglykanů a současně se obtížně zachovává buněčná morfologie. Ve snaze snížit ztrátu proteoglykanů doporučují někteří autoři přidávat do fixačního roztoku safranin O nebo používat směs formalinu a cetylpyridinium chloridu nebo cetrimidu. Je zřejmé, že je nutno najít pouze jeden fixační prostředek k unifikaci kvality hodnocené tkáně.

ICRS doporučuje k fixaci vzorků formalin s pufrem a následně barvení hematoxylinem a eosinem. Samozřejmě, že existují i speciální barvení, jiná však barví proteoglykany a jiná kolagen. ICRS nedoporučuje zvláštní barvení na proteoglykany, protože není jasné, které barvení je optimální. Kolageny je možno obarvit Masson trichromem, Mallory trichromem nebo Sírius červení. Pod polarizovaným světlem je potom možno pozorovat orientaci kolagenních vláken. To je jeden z nejjednodušších způsobů rozlišení mezi hyalinní a vazivovou chrupavkou a průkazu spojení reparační tkáně se subchondrální kostí.

Snahou je vytvoření optimálního systému histologického hodnocení. ICRS doporučuje vizuální histologické hodnocení spočívající v bodovém ohodnocení 6 kritérií. Samozřejmě existují i jiné metody, např. hodnocení využívající monoklonálních protilátek a RNA mikroanalýza. Předpokládá se, že tyto metody v krátké budoucnosti doplní výše uvedený hodnotící systém. Otázkou zůstává hodnocení přítomnosti kolagenu typ X, který byl poprvé izolován z hypertrofických chondrocytů epifyzální chrupavky, později byl v malém množství nalezen i v normální hyalinní chrupavce a intervertebrálním disku. V hodnocených vzorcích by přítomnost kolagenu typu X mohla vypovídat o probíhající enchondrální osifikaci jakožto integraci novotvořené chrupavky se subchondrální kostí nebo remodelaci chrupavky.

ICRS vizuální histologické hodnocení:

I.	Povrch	
	pravidelný	3
	nepravidelný	0
II.	Matrix	
	hyalinní	3
	kombinace: hyalinní/vazivová chrupavka	2
	vazivová chrupavka	1
	vazivová tkáň	0
III.	Distribuce buněk	
	sloupce	3
	kombinace: sloupce/shluky	2
	shluky	1
	izolované buňky/neuspořádané	0
IV.	Životaschopnost buněk	
	převážně živé	3
	částečně živé	1
	< 10% živé	0
V.	Subchondrální kost	
	normální	3
	zvýšená remodelace	2
	kostní nekróza/granulační tkáň	1
	oddělená/ fraktura/ kalus	0
VI.	Mineralizace chrupavky (kalcifikovaná chrupavka)	
	normální	3
	abnormální/nevhodná lokalizace	0

11. Možnosti konzervativní léčby

Většina defektů a degenerativních změn kloubní chrupavky je asymptomatická. Přesto někteří pacienti s chondrální nebo osteochondrální lézí mohou mít bolesti, otoky, giving way, mechanické symptomy typu zablokování, zadrhávání a drásotů. Předpokládá se, že bolest a otok jsou spojené s přítomností rozpadových produktů chrupavky a uvolněním enzymů a cytokinů. Tato kombinace porušuje chrupavku a může způsobit bolestivou synovialitidu a eventuelně další diskomfort spojený s distenzí pouzdra při zvýšené náplni kloubu (hydrops). Jiným zdrojem symptomů je podráždění periarteriálních nervových vláken lokalizovaných v subchondrální kosti. Při skleróze subchondrální kosti dochází k sekundárním vaskulárním změnám, které vedou ke zvýšení průtoku a hromadění venózní krve (zvýšení venózního tlaku) a tím k další stimulaci nervových vláken.

Většinu symptomů spojených s lézí kloubní chrupavky lze efektivně léčit jak konvenčními tak alternativními postupy. Patří sem poučení pacienta o příčinách procesu, životním stylu a úpravě aktivity. Pomoci může redukce váhy, posilování svalů a nezatěžující fitness programy. Pacient je většinou přístupný léčbě, která minimalizuje kloubní obtíže a oddálí nebo vyloučí léčbu chirurgickou. Nefarmakologická léčba osteoartrózy zahrnuje aplikaci tepla a chladu, selektivní použití ortéz, fyzikální terapii a nezatěžující aerobní trénink. Farmakologická léčba je ve svém účinku specifitější. Zahrnuje slabá analgetika, protizánětlivé léky např. inhibitory cyklooxygenázy, lokální injekce kortikosteroidů a chondroprotektivní látky jako jsou perorální glykosaminy a chondroitinsulfát nebo injekční kyselina hyaluronová.

Pacienti s osteoartrózou hledají bezpečnější léčbu. Nejčastěji předepisované léky pro osteoartrózu jsou nesteroidní antirevmatika. Přestože NSA užívají miliony jedinců, neexistuje důkaz, že tyto látky ovlivňují přirozený postup degenerace chrupavky. Navíc se lékaři i pacienti obávají dlouhodobých účinků NSA. Gastrointestinální krvácení spojené s dlouhodobým užíváním NSA je poměrně častou komplikací. Při užívání nových COX-2 inhibitorů se předpokládá nižší výskyt gastrointestinálního krvácení, nelze však vyloučit jiné vedlejší účinky.

Terapie defektů kloubní chrupavky suplementací viskozity použitím injekčně aplikované kyseliny hyaluronové je v Evropě dostupné více než 15 let, v USA se používá od roku 1997. Použití této metody je založeno na pozorování, že u osteoartrózy dochází k poklesu viskozity a elasticity synoviální tekutiny a že v artrotickém kolenu má kyselina hyaluronová nižší molekulární váhu než v kolenu zdravém. Doplnění kyseliny hyaluronové může ovlivnit vlastnosti synoviální tekutiny a může přispět k odeznění symptomů a zlepšení

funkce. V in vitro studiích na lidských synovialocytech z kloubů postižených osteoartrózou se ukázalo, že exogenní kyselina hyaluronová stimuluje syntézu vlastní kyseliny hyaluronové, inhibuje uvolňování kyseliny arachidonové a inhibuje syntézu prostaglandinu E2 indukovanou interleukinem-1 α v humánních synovialocytech. Současné klinické pokusy potvrdily účinnost a bezpečnost intraartikulárních injekcí kyseliny hyaluronové. Suplementace viskozity nemůže nahradit potřebu úpravy zhoršující se funkce kloubu cvičením, posilování svalů a redukcí váhy. Lze však snížit náklady a morbiditu spojenou s užíváním NSA.

Je potřeba dalších studií k objasnění specifických indikací různých neoperačních léčebných metod a k posouzení jejich efektivity. Při hodnocení neoperační i operační léčby osteoartrózy a chrupavčitých lézí je třeba počítat i s placebo efektem. Navíc, symptomy související s lézí kloubní chrupavky a osteoartrózou mohou mít aktivní a klidové fáze nezávislé na léčbě a jejich odeznění nemusí být nutně způsobeno léčbou. U pacientů, u kterých byla nefarmakologická i farmakologická léčba neúspěšná a kteří nemohou nebo nechtějí užívat léky, je třeba zvažovat léčbu operační.

12. Možnosti operační léčby

Existuje mnoho metod operační léčby chondrálních a osteochondrálních defektů. U každé z těchto metod je udávána různá úspěšnost v závislosti na věku pacienta, stupni jeho aktivity, lokalizaci, velikosti, tvaru a hloubce defektu. V klinické praxi nejčastěji používané metody pro léčbu defektů a degenerativních změn chrupavky jsou laváž, artroskopický debridement a metody stimulující reparaci. Přímá transplantace buněk nebo tkáně do defektu a vyplnění defektu biologickou nebo syntetickou náhradou je v současné době indikována u malého procenta pacientů.

„Hojení“ kloubní chrupavky je spíše nespecifický termín. Hojení je definováno jako obnovení strukturální integrity a funkce poškozené tkáně. Termín „*reparace*“ znamená náhradu poškozených či ztracených buněk nebo matrix novými buňkami nebo novou matrix, ale neznamená nutně obnovení původní struktury tkáně. Naproti tomu termín „*regenerace*“ znamená, že poškozená tkáň je nahrazena specifickou tkání, novými buňkami a matrix identickými s původní tkání. „*Substituce*“ znamená náhradu poškozené chrupavky biologickými nebo syntetickými polymery, které mají mechanické vlastnosti podobné kloubní chrupavce, ale není zde požadavek přesné duplikace normální kloubní chrupavky.

Pro dlouhodobé udržení funkce kloubu jde z biomechanického hlediska především o to, udržet zátěž kloubních ploch na co nejnižší úrovni. Princip šetření materiálu se zakládá na rozdělení přenášených sil na co největší plochu. Tímto způsobem je ve zdravém kloubu tlaková zátěž na 1 cm² nosné plochy chrupavky minimalizována na nejnižší možnou úroveň. Také zbylé strukturální komponenty kloubu (vazy, menisky) mají za úkol chránit hyalinní chrupavku před poškozením.

Hlavním cílem biologických rekonstrukčních postupů musí proto být znovuoobnovení pokud možno fyziologických tlakových poměrů. Korigováno musí být existující nesprávné osové postavení, musí být odstraněna nestabilita. Zejména při větším poškození chrupavky musí být obnovena kongruence povrchu zraněné kloubní chrupavky. Inkongruence kloubních povrchů je klasickým příkladem preartrózy. Klinické výsledky různých studií ukazují, že požadavky na postupy k biologické rekonstrukci kloubní chrupavky jsou se zvětšující se velikostí defektu komplexnější. U mladých pacientů s otevřenou růstovou chrupavkou a lokalizovanou chrupavčitou lézí je upřednostňováno použití minimálně invazivních metod založených na indukci (vyvolání) tkáňové odpovědi (např. mikrofraktury, návrtý). Celovrstvé ohraničené poškození chrupavky do velikosti asi 2 cm² při již uzavřené růstové chrupavce může být zpravidla úspěšně sanováno pomocí mikrofraktur nebo návrtů a při velikosti defektu do 4 cm² pomocí přenosu autologních osteochondrálních štěpů (mozaiková plastika, OATS). U větších defektů musí být použita transplantace autologních chondrocytů jako metoda volby, protože v tomto případě jsou jiné biologické rekonstrukční postupy (např. mozaiková plastika) méně vhodné z důvodu technické proveditelnosti a vysokého procenta sekundárních komplikací. Jedna nedávno zveřejněná prospektivní randomizovaná multicentrická studie se 100 pacienty ukázala, že při průměrné velikosti defektu 4,66 cm² byly výsledky po transplantaci autologních chondrocytů signifikantně lepší než po mozaikové plastice. V průměru 19 měsíců po mozaikové plastice byly často pozorovány první známky degenerativních změn, v případě transplantace autologních chondrocytů degenerativní změny pozorovány nebyly. Tyto výsledky poukazují na velký význam obnovení kongruence kloubních ploch pro další prognózu po biologických rekonstrukčních postupech.

Při postupech založených na přenosu osteochondrálních štěpů nemůže být zejména u větších defektů dosaženo optimální kongruence povrchových ploch ani přes technická zlepšení a přes makroskopicky optimální výškové umístění bločku. Po transplantaci autologních chondrocytů je transplantovanými buňkami nově tvořená základní hmota (matrix) zpočátku měkká a formovatelná a během zrání se může přizpůsobit povrchu kloubu. Různé studie ukazují, že histologické výsledky transplantace autologních chondrocytů na rozdíl od

jiných biologických rekonstrukčních postupů (mikrofraktury, transplantace periostu a perichondria) jsou s narůstajícím odstupem od operace lepší. V jedné dlouhodobé studii se 101 pacientem po transplantaci autologních chondrocytů byla nalezena vysoká korelace mezi dobrými histologickými a klinickými výsledky.

12.1. Laváž a debridement

Laváž a artroskopický debridement jsou techniky, které neindukují reparaci, ale jsou zaměřeny na dočasnou úlevu od symptomů a obtíží, které jsou spojeny s lézemi kloubní chrupavky a artrózou. Samotná artroskopická laváž může mít dočasný příznivý účinek při léčení artrózy kolena. Předpokládá se, že přínos artroskopické laváže spočívá v odstranění drtě degenerované kloubní chrupavky, proteolytických enzymů a zánětlivých mediátorů. Přínosem artroskopického debridement je odstranění částečně odloučených fragmentů nebo degenerované kloubní chrupavky a úprava nerovností kloubního povrchu. Protože se při tomto ošetření neperforuje subchondrální kost, nedochází k stimulaci reparace. V souhrnu, laváž a debridement dokáží zajistit dočasnou úlevu od symptomů chondrálních poranění, avšak trvání tohoto příznivého stavu je velmi variabilní. Je nutné vyvarovat se přehnané intenzitě debridement, po kterém dochází k odkrytí rozsáhlé oblasti kloubního povrchu a vede ke zvýšení kontaktního zatížení sousední tkáně.

12.2. Laser a radiofrekvenční energie

Laser se už dlouho používá k ablaci a kauterizaci tkání. Bylo provedeno mnoho studií s cílem zhodnotit, zda jednotlivé typy laseru mohou pozitivně ovlivnit chondrální poranění. Validita většiny těchto studií však byla limitována omezeným počtem vzorků a krátkou dobou sledování. Ukázalo se, že použití laseru pravděpodobně nepřináší žádný benefit oproti jednoduchému mechanickému debridement. Navíc může laser zvýšit riziko komplikací, jako je nekróza chrupavky.

Monopolární a bipolární radiofrekvenční energie je používána pro léčbu defektů kloubní chrupavky, které nepostihují celou vrstvu. Těto technologie se používá k ohlazení a stabilizaci povrchu chrupavky. Po počátečním nadšení ohledně tvarovací schopnosti radiofrekvenční energie bylo zjištěno, že termální plastika chrupavky vede k okamžité smrti chondrocytů a v konečném důsledku vede ke snížení hladiny proteoglykanů. Lu a kolektiv prokázali, že bipolární radiofrekvenční energetická zařízení pronikají o 78 až 92 % hlouběji

než monopolární systémy a dosahují až k subchondrální kosti. Do doby, než budou ukončeny další studie a dokud nebude možné spolehlivě ovlivnit hloubku penetrace, bude mít radiofrekvenční energie pro léčbu poranění kloubní chrupavky pouze omezený význam.

12.3. Techniky stimulující kostní dřev (návrty, mikrofraktury, abraze)

Cílem těchto technik je umožnit přístup cév a migraci pluripotentních mezenchymálních kmenových buněk z kostní dřevě do chondrálního nebo osteochondrálního defektu. Existují různé techniky, které pomocí návrů, mikrofraktur a abraze subchondrální kosti na spodině defektu podporují krvácení a migraci dřevových buněk do defektu.

V roce 1959 poprvé Pridie popsal metodu navrtání subchondrální kosti. Johnson zavedl abrazivní artroplastiku při které je používána frézka, kterou se resekují subchondrální kost do hloubky 1-2 mm. Steadman zavedl techniku mikrofraktur, při které se tvoří pomocí šídla mnohočetné vpichy do subchondrální kosti ve vzdálenosti 3 až 5 mm od sebe. Tato technika stimuluje cévní odpověď a přitom zachovává strukturální integritu přilehlé subchondrální kosti. Použití šídla má teoreticky výhodu v tom, že neindukuje tepelnou nekrózu, která je typická pro navrtávací techniky. Steadman a kol. prokázal, že u 75% jeho pacientů dochází ke zlepšení bolesti ve sledovacím období 3 až 5 let. Doporučil schéma pooperační péče, které zahrnuje kontinuální pasivní pohyb (CPM) a vyloučení zátěže na 6 až 8 týdnů.

Obvyklým výsledkem těchto penetračních technik je vyplnění kloubního defektu vazivem a vazivovou chrupavkou. Oproti hyalinní chrupavce má vazivová chrupavka horší mechanické vlastnosti, po čase podléhá degeneraci což vede k postupnému zhoršování klinických výsledků. Tyto nálezy podpořily výzkumy jiných terapeutických možností, které umožní tvorbu tkáně lépe napodobující kloubní chrupavku.

12.4. Osteochondrální autologní štěpy

U větších defektů je obtížné dosáhnout kompletního spontánního zhojení. V experimentu na kozách bylo prokázáno, že neléčené rozsáhlé hluboké defekty na nosné ploše mediálního kondylu femuru jsou spojeny s nedokonalým spontánním reparačním procesem a s dalším postižením chrupavky v okolí defektu. Bez obnovení kostního základu, který zahrnuje subchondrální ploténku, je nanejvýš nepravděpodobné, že regenerační proces povede k funkčnímu zhojení větších defektů. Convery v experimentu na distálním femuru u

koní posuzoval vliv velikosti defektu na hojení. Zjistil, že velké defekty o průměru > 9 mm se nehojí, ale menší defekty o průměru < 3 mm se plně zhojí do 3 měsíců. Vedle velikosti defektu mohou ovlivnit reparační proces i jiné faktory, jako lokalizace defektu a časná zátěž defektu v iniciačních fázích hojení.

Principem této techniky ošetření defektu je transplantace jednoho nebo více osteochondrálních štěpů a někdy se nazývá mozaiková plastika nebo OATS (osteochondral autograft transplant system). Může být prováděna otevřenou technikou nebo artroskopicky. Vyžaduje excizi veškeré poraněné nebo nestabilní tkáně z defektu a vytvoření cylindrických otvorů v kosti na spodině defektu. Tyto otvory se vyplní cylindrickými osteochondrálními štěpy ze zdravé chrupavky a kosti v mozaikovém uspořádání. Osteochondrální štěpy jsou odebírány ze zdravé méně zatěžované části kloubní plochy. Cílem je vyplnit co největší plochu defektu (60-80 %). Histologická vyšetření potvrzují, že hyalinní chrupavka cylindrického štěpu má schopnost v novém prostředí přežít a udržet si svoji strukturální integritu.

Ve studii s 227 pacienty prokázal Hangody, že u lézí o velikosti $1-9$ cm² má mozaiková plastika lepší výsledky, než abrazivní artroplastika, mikrofraktury a návrty. Došel k závěru, že u procedur založených na penetraci subchondrální kosti dochází postupně k zhoršování výsledků. K zlepšení došlo u 48-62% pacientů, zatímco u pacientů ošetřených transplantací osteochondrálních autoštěpů se i po pěti letech počet dobrých výsledků pohyboval mezi 86-90%.

Transplantace autologních osteochondrálních štěpů se ukázala být efektivní technikou pro ošetření středních defektů ($2-4$ cm²). Pro dosažení optimálních výsledků je důležitá technika fixace štěpu, nepřetržitý pasivní pohyb a úprava zatěžování. Faktory, které mohou zhoršit výsledek jsou morbidita v místě odběru štěpů, poškození chondrocytů na okrajích odběrového defektu a okrajích štěpu během preparace a implantace a selhání nebo kolaps štěpu. Inkongruence kloubního povrchu v místě implantace může poškodit chrupavku na protilehlé kloubní ploše a nepříznivě ovlivnit celkový výsledek. Přesné obnovení normální kontury kloubního povrchu závisí na velikosti defektu, na zakřivení povrchu chrupavky osteochondrálního štěpu a na správné hloubce jeho umístění.

12.5. Osteochondrální alogenní štěpy

Transplantace velkých alogenních osteochondrálních štěpů představuje další možnost ošetření kloubních defektů. Aloštěpy jsou používány po některých těžkých traumatech kloubu

a u nádorů postihujících kloub nebo přilehlou kost. Používají se k ošetření velkých defektů, které svým rozsahem nejsou vhodné pro léčbu autologními cylindrickými štěpy a k ošetření neohraničených defektů. Výhodou osteochondrálních aloštěpů je možnost rekonstrukce rozsáhlých defektů, možnost obnovení anatomické kontury kloubu a snížená morbidita spojená s odebráním štěpů. Klinické výsledky těchto štěpů jsou podmíněny množstvím zachovaných vitálních chondrocytů, které udržují extracelulární matrix, dále připojením k hostitelské kosti a revaskularizací štěpu bez přílišného kolapsu. To závisí především na způsobu jejich uchování a na době mezi odběrem a implantací.

Při použití čerstvých osteochondrálních aloštěpů jsou udávány dobré výsledky v 75% po 5 letech, 64% po 10 letech a 63% po 14 letech. Zmrazené aloštěpy vykazují srovnatelné výsledky s čerstvými aloštěpy při použití k ošetření lokalizovaných kloubních defektů na distálním femuru. Vyšší počet selhání byl pozorován u bipolárních štěpů a u pacientů nad 60 let. K zlepšení úspěšnosti aloštěpů se používají odlehčující korekční osteotomie. Použití této techniky limituje riziko přenosu infekcí a imunitní reakce, životaschopnost a dostupnost tkáně.

12.6. Periostální a perichondrální štěpy

Periostální a perichondrální štěpy byly v minulosti chápány jako dárci buněk. Homminga a kol. použil v roce 1990 kostální perichondrium k vyplnění kloubních defektů u 25 pacientů. V následném kontrolním období, kdy byla prováděna artroskopie a odběry biologických vzorků, zjistil přítomnost hyalinní reparační tkáně. Do 2 let se však u více než dvou třetin pacientů objevily ve štěpech kalcifikace, které vznikají enchondrální osifikací uvnitř štěpu. Tyto kalcifikace nakonec vedou k selhání štěpu.

Periost je v době embryogeneze derivován z perichondria. Ukázalo se, že má chondrogenní potenciál ve vrstvě kambia, která produkuje chrupavku podobnou hyalinní chrupavce. Lorentzon léčil 26 patelárních defektů periostálními štěpy z tibie v kombinaci s debridement, mikrofrakturami a časným pooperačním kontinuálním pasivním pohybem. Po 3,5 letech zjistil 16 velmi dobrých a 9 dobrých výsledků a doporučil léčbu pro pacienty s nereagující patelofemorální bolestí. Možnost osifikace této tkáně však vedla k limitovanému použití této techniky.

12.7. Transplantace autologních chondrocytů

Vyvolání tvorby biologické náhradní tkáně, která se podobá kloubní chrupavce, vyžaduje živé buňky schopné syntetizovat a udržovat mezibuněčnou chrupavčitou matrix. Tyto živé buňky nebo tkáň obsahující živé buňky mohou být přímo transplantovány do defektu kloubní chrupavky. Je třeba, aby buňky implantované do defektu zůstaly živé a aby tvořily odolnou matrix. Experimentální a předběžné klinické studie tkáň regenerujících technik ukázaly, že autologní chondrocyty i nediferencované mesenchymové buňky aplikované do defektů kloubní chrupavky přežívají a jsou schopné produkovat novou matrix podobnou chrupavčité.

Jednou z metod, které se snaží o regeneraci kloubní chrupavky, je implantace autologních chondrocytů. Při této metodě jsou odebírány zralé chondrocyty, které jsou pomnoženy v buněčné kultuře in vitro a potom implantovány do defektu. Jiné metody regenerace chrupavky využívají různé typy autologních buněk, které jsou málo diferencované prekurzory s chondrogením potenciálem. Tyto kmenové buňky mohou pocházet z perichondria, periostu, synoviální výstelky, kostí dřeně, epifyzární chrupavky a periferní krve. Vlivem okolního prostředí a růstových faktorů se mohou diferencovat ve zralé buňky podobné chondrocytům, které mohou tvořit tkáň podobnou hyalinní chrupavce.

Předpokládaný princip účinku byl prokázán ve dvou základních studiích. Fenotypicky stabilní chondrocyty mohou po své retransplantaci in vivo přežít a mohou zregenerovat kvalitativně cennou chrupavku. Vznikající chrupavčitá tkáň vykazuje vysokou podobnost s hyalinní chrupavkou a proto je v odborné literatuře označována jako hyalinní chrupavce podobná (hyaline-like). Na rozdíl od vazivové chrupavky může dosáhnout až 90 % pevnosti zdravé hyalinní chrupavky. Grade a Brittberg prokázali na králících, že přidáním kultivovaných chondrocytů pod štěp transplantovaného periostu (kambiová vrstva směřuje do defektu) může být dosaženo lepší reparace defektu než při použití samotné periostální tkáně. U této techniky byly chondrocyty uvolněny pomocí enzymů a pomnoženy in vitro. Zmnožená populace buněk byla transplantována do defektu a překryta periostální záplatou. Buňky vyplňující defekt produkovaly tkáň podobnou hyalinní chrupavce. Periostální záplata, orientovaná vrstvou kambia ke spodině defektu, je použita k udržení transplantovaných chondrocytů v defektu a působí jako mechanická bariéra. Předpokládá se, že má příznivý humorální efekt na syntézu reparační tkáně. K reparačnímu procesu může také přispět migrace chondrogenních buněk z kambia periostu.

První použití transplantace autologních chondrocytů u člověka bylo popsáno švédskou skupinou Brittberga a Petersona v roce 1994. Při tomto postupu je artroskopicky odebráno

z nezatěžované části kloubu přibližně 150-200 mg hyalinní chrupavky. Po sterilní kultivaci dostatečného počtu buněk in vitro jsou chondrocyty injikovány pod dříve přišitou periostální záplatu do operačně připravené dutiny defektu. Ve více než 13letém období klinických studií Petersona a spol. je udávána až 90% úspěšnost. V krátko a střednědobém sledování byly také ostatními autory referovány podobně slibné výsledky.

Selhání konvenční transplantace autologních chondrocytů může být způsobeno mnoha faktory. Může se jednat o nedostatečnou kvalitu kultivovaných chondrocytů, chybné indikace nebo nevhodnou operační techniku. Při chybějícím stabilním chrupavčitém ohraničení defektu („noncontainment“), lze konvenční transplantaci chondrocytů provést obtížně nebo vůbec ne. Další obecnou nevýhodou je časově náročné přišití periostální záplaty přes předem ošetřený defekt chrupavky. Tento postup vyžaduje rozsáhlou artrotomii, která vede ke značné traumatizaci kloubu a jeho podpůrného aparátu a k pooperačním potížím.

Výsledky experimentů na zvířatech a různé studie na člověku ukazují, že k buněčné transplantaci je možné použití vhodných biomateriálů popřípadě jiných nosných materiálů. Při tomto postupu odpadá potřeba našití periostální záplaty. Preparace defektu a implantace nosného materiálu s chondrocyty může být provedena miniinvazivní metodou. Při vhodné lokalizaci defektu je v současné době zkoušena i artroskopická aplikace. To vede ke zjednodušení metody, podstatnému zkrácení operačního času a ke značné redukci morbidity.

Současnou indikací pro transplantaci autologních chondrocytů jsou symptomatické hluboké defekty kloubní chrupavky větší než 2 cm², lokalizované v zátěžové oblasti femorálních kondylů a patelofemorálního kloubu u pacientů od 15 do 50 let věku. Pacient musí být schopen dodržet pooperační rehabilitaci. Přestože v novější literatuře již existují odkazy na dobré výsledky konvenční transplantace autologních chondrocytů u počínajících degenerativních změn chrupavky kolena není metoda indikována pro léčbu poškození chrupavky při pokročilejších degenerativních změnách nebo v případech manifestní osteoartrózy dokud nebudou předloženy další studie. Dále není indikována v případě bipolárních lézí, kdy i na protilehlé kloubní ploše je hluboká chondrální léze. Pro indikaci je důležitý i celkový stav kolenního kloubu. Postižení vazivového aparátu (nestabilita), osové deformity, femoropatelní dysplazie a kompletní chybění menisků jsou faktory nepříznivé pro obnovení chrupavky. Podmínkou dobrého výsledku transplantace je obnovení stability kloubu, korekce osové deformity, přiměřený rozsah pohybu a svalové síly. Výhodou je alespoň částečné zachování funkce menisku v příslušném postiženém kompartmentu.

Před transplantací autologních chondrocytů je vedle podrobného klinického vyšetření nezbytné i RTG vyšetření (AP snímky v zátěži, AP snímky v zátěži v 45° flexi, axiální

snímky na FP kloub a v případě potřeby podrobněji posoudit osovou odchylku i dlouhý snímek na osu celé končetiny). RTG snímky a MR vyšetření slouží k posouzení stavu subchondrální kosti. Pokud je defekt v kosti hlubší než 7-8 mm vyžaduje vyplnění kostními štěpy před nebo současně s transplantací chondrocytů. K definitivnímu zhodnocení a rozhodnutí zda je léze vhodná k transplantaci chondrocytů slouží artroskopie. Zhodnotíme velikost, lokalizaci a hloubku defektu, stav okolní kloubní chrupavky, kosti na spodině defektu a stav protilehlé kloubní plochy. Artroskopie umožní zhodnotit stabilitu kloubu a stav menisků. Ideální pro ošetření transplantací autologních chondrocytů je defekt zasahující k subchondrální kosti, dobře ohraničený chrupavkou normálního vzhledu v jinak zdravém kloubu. Ideální defekt je však v klinické praxi spíše výjimkou, protože hodně defektů má neúplné ohraničení.

12.7.1. Operační technika konvenční transplantace autologních chondrocytů

Nezbytným prvním krokem je odběr chrupavky ke kultivaci chondrocytů. Po in vitro pomnožení chondrocytů následuje jejich implantace, spočívající v artrotomii, preparaci defektu, odběru periostu, fixaci periostálního štěpu přes defekt, utěsnění obvodu štěpu fibrinovým lepidlem, implantace chondrocytů do defektu pod štěp a uzavření operační rány.

Odběr chondrocytů ke kultivaci (biopsie). Tkáň se odebírá z horního okraje mediálního nebo laterálního kondylu femuru v oblasti, která neartikuluje s tibií a má omezený kontakt s patelou. Může být také získána z laterálního okraje interkondylického prostoru z místa kde se provádí notch plastika při rekonstrukci PZV. Odběr se provádí bioptickými kleštěmi, prstencovou kyretou, žlábkovým dlátem nebo bioptickou jehlou. Odebírá se několik malých kousků chrupavky v celé její tloušťce v celkovém množství asi 150-200 mg (asi jako guma na tužce). Odebraná chrupavka je umístěna za sterilních podmínek do připravené nádoby s tkáňovým médiem (živý roztok) a odeslána ke kultivaci do tkáňové laboratoře. Namnožené chondrocyty jsou k dispozici nejdříve za 3 týdny po odběru, kultivace může být dle potřeby dočasně přerušena.

Operační přístupy. Dle lokalizace defektu se obvykle používá mediální nebo laterální parapatelární přístup. Přístup musí umožnit dostatečný přístup k ošetření defektu. Ošetření spočívá v odstranění poškozené chrupavky, bezpečném přišití periostálního štěpu ke zdravé chrupavce na okraji defektu vstřebatelným stehem a vodotěsným zalepením štěpu po obvodu fibrinovým lepidlem. Pro několikanásobné, komplexní nebo těžko dosažitelné defekty se doporučuje centrální incize s mediální parapatelární artrotomií a everzí pately zevně. Ošetření

defektu nesmí být ovlivněno nedostatečným přístupem. V některých případech, zvláště u pacientů s defekty na patele a ve femorálním žládku, kde je současně s transplantací chondrocytů indikována anteromedální transpozice tuberosity tibie, může osteotomie tuberozity s otočením pately proximálně podstatně rozšířit přístup.

Debridement defektu. Veškerá poškozená a uvolněná hyalinní chrupavka na okrajích defektu a vazivová chrupavka na spodině defektu musí být z defektu odstraněna. Konečným cílem je získat trvanlivou hyalinní chrupavce podobnou tkáň, která se spojí s okolní zdravou chrupavkou a kostí na spodině defektu (tzv. integrovanou hyaline-like chrupavku). Nedostatečné odstranění hlubších vrstev chrupavky překrývajících subchondrální kost může zamezit spojení novotvořené chrupavčité tkáně se subchondrální kostí. V experimentu na psech bylo prokázáno, že ponechání vrstvy kalcifikované chrupavky může vést k nespojení chrupavky s kostí. Chrupavka kolem defektu je často poškozená. V chrupavce kolem defektu jsou často trhliny, chrupavka je zeslabená nebo podminovaná. Jestliže není poškozená chrupavka na okrajích a v sousedství defektu odstraněna je ohroženo spojení novotvořené chrupavky s chrupavkou kolem defektu. Dále uchycení periostálního štěpu k měkké a poškozené chrupavce na okrajích defektu zvyšuje riziko jeho uvolnění. Poškozená chrupavka v okolí defektu má být odstraněna do zdravé nepoškozené chrupavky a až k subchondrální kosti. Občas se setkáváme s osteofyty na subchondrální kosti uvnitř defektu, které mohou být následkem poškození subchondrální kosti při úrazu nebo při předchozí operaci (návrty, abraze, mikrofraktury). Tyto kostní prominence (osteofyty) by měly být šetrně sklepany hladkým kostním dotloukačem do subchondrální kosti do úrovně okolní kosti. Kyretáž nebo excize těchto osteofytů vede ke krvácení a před transplantací chondrocytů je nezbytné, aby spodina defektu byla suchá. Při čištění defektu nesmíme vyvolat krvácení ze subchondrální kosti. Při krvácení mohou do defektu proniknout kmenové buňky a fibroblasty, které mohou ovlivnit (zhoršit) kvalitu novotvořené tkáně. Případné krvácení je třeba zastavit. K zastavení krvácení ze subchondrální kosti používáme přípravky s epinefrinem a trombinem, fibrinové lepidlo nebo jako poslední možnost elektrokoagulaci. Elektrokoagulaci je třeba nastavit na nízkou hodnotu a ošetřit pouze jednotlivé krvácející body jinak můžeme způsobit ložiskové nekrózy. Na konci přípravy bychom měli mít suchý defekt se subchondrální kostí na spodině a téměř normální kloubní chrupavkou na okraji defektu. Nyní je defekt změřen a stanovena velikost potřebného periostálního štěpu. Změříme největší anteroposteriorní a mediolaterální rozměr defektu ke kterému přičteme 1-2 mm a získáme velikost štěpu. Jinou metodou stanovení velikosti a tvaru defektu vhodnou pro dobře ohraničené defekty je šablona ze sterilního papíru do kterého jsou baleny chirurgické rukavice. Po vystřížení slouží šablona

k přenesení velikosti a tvaru defektu do místa odběru periostu. Při odběru periostálního štěpu musíme vzít v úvahu možnost jeho smrštění po odběru.

Odběr periostu. Doporučené místo k odběru periostálního štěpu je mediální kondyl tibie těsně pod pes anserinus. Nejčastější chybou při odběru štěpu je ponechání tenké vrstvy fascie na periostu. Před odběrem musí mít periost vzhled lesklé bílé tkáně, zbarvení do žluta svědčí pro ponechání vrstvy fascie. Fascii z periostu odstraníme ostrou disekcí nůžkami. U starších pacientů může být periost atrofický. Pokud je periost na tibií velmi tenký a křehký není jako štěp vhodný. Výjimečně je možno periostální štěp odebrat z distálního femuru nad mediálním nebo laterálním kondylem, zde je periost uložen pod synoviální tkání a bývá silnější.

Fixace periostálního štěpu. Úprava a fixace periostálního štěpu je velmi důležitá. Periost je fixován jednoduchými jednotlivými vstřebatelnými stehy (Vicryl 6-0), které jsou od sebe vzdálené 3-4 mm. Nejdříve štěp fixujeme v rozích, tím zajistíme správnou polohu a napětí štěpu. Štěp musí být nad defektem vypnut jako kůže na bubnu. Musí dosahovat k chrupavce na okraji defektu, ale ne přes ni. Přesahující periost je odstřižen ostrými nůžkami. Uzly se vážou na straně periostu, tím se vyhneme jejich zadržování a event. rozvázání. Pokud je chrupavka na okraji defektu silnější používáme kratší více zahnutou jehlu, pokud je tenká používáme jehlu delší s větším poloměrem. Snažíme se o vodotěsnou suturu po obvodu štěpu s ponecháním pouze malého otvoru pro aplikaci chondrocytů. Fyziologickým roztokem provedeme zkoušku těsnosti. Dle potřeby v místě úniku roztoku doplníme stehy. Po obvodu utěsníme periostální štěp ještě fibrinovým lepidlem.

Implantace autologních chondrocytů. Autologní chondrocyty zaslané ve speciálním kontejneru se suchým ledem zůstávají životaschopné alespoň 36 hodin. Každá nádobka obsahuje 10 až 12 milionů chondrocytů a poskytuje množství potřebné pro defekt do 10 cm². Chondrocyty se po rozmíchání nasají do injekční stříkačky a vstříknou (aplikují) pod periostální štěp do defektu. Malý otvor ponechaný pro aplikaci chondrocytů je potom uzavřen 1 až 2 stehy a fibrinovým lepidlem. Po ukončení implantace odstraníme retraktory a koleno převedeme do plné extenze. Při výplachu, odsávání a stavění krvácení nesmíme poškodit štěp. Všechny další průvodní operace by měly být dokončeny před implantací buněk. Drén se obvykle nepoužívá vzhledem k možnému kontaktu se štěpem a možnému sacímu efektu při podtlaku.

12.7.2. Možné peroperační problémy a jejich řešení

Ne všechny defekty jsou ideální. Některé defekty jsou částečně neohraničené (non-containment), některé jsou obtížně dosažitelné (zadní část kondylů) a u některých je obtížné obnovit tvar kloubního povrchu (centrální část pately). Změnu operační techniky vyžadují defekty v subchondrální kosti hlubší než 7-8 mm. Často se můžeme setkat s dalším postižením kloubu jako osová deformita nebo nestabilita. Chirurg si musí být vědom těchto možných problémů.

Defekty špatně neúplně ohraničené nebo v lokalizaci kde jde špatně obnovit tvar povrchu kloubní chrupavky. Při počátečním artroskopickém vyšetření se často defekt zdá ohraničený zdravou chrupavkou, ale při implantaci se zjistí, že okolní chrupavka je poškozená a musí být odstraněna. Může dojít k rozšíření defektu, který zasahuje k perifernímu okraji kloubní plochy kondylu nebo do interkondylického prostoru. Defekt zasahující do interkondylického prostoru je příklad neúplně ohraničeného defektu, chybí mu chrupavčitý okraj na interkondylickém okraji defektu. Periostální štěp je fixován k měkké synoviální tkáni v interkondylickém prostoru. Další lokalizací je periferní okraj laterálního kondylu femuru, k fixaci periostálního štěpu poslouží měkké tkáně na okraji kondylu. Jinou možností je fixace do otvorů vyvrtaných do kosti na okraji defektu (kostní steh), další možností je použití speciální kostní kotvičky (např. mini, mikro-Mitek). Možnosti fixace: měkké tkáně na okraji defektu, steh do otvorů vyvrtaných do kosti v okraji defektu, fixace speciálními kostními kotvičkami.

Defekty zasahující dorzálně zejména v laterálním kompartmentu jsou z předního přístupu obtížně dosažitelné. Fixace periostálního štěpu na zadním okraji defektu je obtížná. Přístup se zlepšuje v maximální flexi kolena.

Hluboký defekt v subchondrální kosti. Je třeba posoudit zda chondrální defekt je spojen s kostním defektem. Při kostním defektu je třeba určit jeho hloubku. K určení hloubky kostního defektu je nejvhodnější kombinace MR vyšetření a artroskopie. MR vyšetření umožní určit kvalitu kosti, její vitalitu a event. rozsah nekrózy. Povrchní léze není třeba vyplnit štěpy. Sklerotickou kost na spodině defektu šetrně očistíme, dáváme pozor abychom nevyvolali krvácení. U defektů hlubších než 8 mm se doporučuje vyplnění defektu kostními štěpy (spongioplastika defektu). Po vhojení vytvoří novou subchondrální kost. Výplň defektu zmenší tloušťku potřebné novotvořené chrupavčité tkáně. Spongioplastika defektu se obvykle provádí v době artroskopického vyšetření a odběru chrupavky. Zhojení a konsolidace kostních štěpů vyžaduje 4 až 6 měsíců nebo déle. Spongioplastiku defektu je možno provést otevřeně nebo artroskopicky v závislosti na velikosti, lokalizaci a zvyklosti (preferenci) chirurga.

K výplni defektu se používají štěpy z lopaty kosti kyčelní nebo proximální tibie, auto nebo aloštěpy. Artroskopická technika spočívá v odstranění nekrotické kosti, vyplnění štěpy a zajištění štěpů fibrinovým lepidlem. Výhodné je upravit defekt tak, že se k povrchu zužuje, to zlepší fixaci štěpů. K ošetření defektu používáme kostní frézy a kyrety. Odstraníme veškerou nekrotickou kost. K vyplnění defektu používáme kousky spongiózní kosti nebo kostní pastou dle velikosti defektu a preference chirurga. Při artroskopické technice je při aplikaci štěpů zastaven průtok tekutiny a 8 nebo 9 mm kanylou pomocí obturátoru je štěp zaveden do defektu. Defekt je postupně vyplněn do úrovně okolní subchondrální kosti. Na štěpy je nanесena vrstva fibrinového lepidla, tím jsou štěpy fixovány. Pooperačně je doporučeno odlehčení na 4 týdny. Vhojení kostních štěpů v defektu trvá 4 až 6 měsíců.

Současně se vyskytující poruchy kolena. Nestabilita, osové deformity, femoropatelní dysplazie, poškození menisků a další poruchy mohou být příčinou selhání transplantace autologních chondrocytů a špatných výsledků. Tyto poruchy musí být řešeny před nebo současně s transplantací chondrocytů.

Při nestabilitě kolenního kloubu je novotvořená chrupavčitá tkáň ohrožena působením střížných sil. Nejčastější vazivové poranění vyskytující se současně s chondrálními defekty je poranění předního zkříženého vazy. Rekonstrukci předního zkříženého vazy provádíme před nebo současně s transplantací autologních chondrocytů. Současná rekonstrukce předního zkříženého vazy ovlivní pooperační rehabilitaci pouze minimálně.

Při osových deformitách může být novotvořená chrupavčitá tkáň ohrožena zvýšenou tlakovou zátěží. Pokud mechanická osa končetiny prochází přes kompartment s chondrální lézí je třeba provést odlehčující korekční osteotomii. Současná korekční osteotomie tibie se stabilní fixací také výrazněji neovlivní pooperační rehabilitaci.

Při chondrálním defektu na patele a ve femorálním žlábků musíme myslet na femoropatelní dysplazii a osové odchylky extenzorového aparátu. Nejčastěji je indikována stabilizace pately a anteromediální transpozice tuberosity tibie dle Fulkersona. Osteotomie tuberosity tibie zlepší přístup k ošetření defektu na kloubní ploše pately a ve femorálním žlábků.

Velké chondrální defekty. Na jinak zdravém kloubu (bez artrózy, pokud se nejedná o bipolární defekty zasahující ke kosti, bez dalších poruch kolena nebo po jejich korekci) jsou výsledky ošetření větších defektů ($> 6 \text{ cm}^2$) stejné jako u defektů menších. Jediným významným rozdílem je delší doba nezbytná pro vytvoření novotvořené chrupavčité tkáně a její maturaci. Ošetření špatně ohraničených a špatně přístupných defektů usnadní transplantace chondrocytů na pevném nosiči.

Mnohočetné defekty. Pokud je koleno bez artrózy je léčení mnohočetných defektů stejné jako léčení defektů izolovaných. Při artroskopii musíme ozřejmit a změřit všechny léze. Problém může být v potřebě odběru více periostálních štěpů. Štěpy je třeba odebrat z více míst (proximální tibie pod pes anserinus, distální femur nebo kontralaterální proximální tibie). Silnější periost by měl být použit pro defekty na patele nebo ve femorálním žlábků, tenčí pro defekty na kondylech femuru.

12.7.3. Řešení komplikací

Komplikace je možné rozdělit na komplikace spojené s periostálním štěpem, artrotomií a průvodními operacemi.

Nejčastější komplikací je přerůst nebo hypertrofie periostálního štěpu. K hypertrofii dochází nejčastěji mezi 5 až 9 měsícem po implantaci. Klinicky se projevuje zadržáváním, praskáním, přeskakováním nebo otokem. Tyto symptomy mohou ale nemusí být bolestivé. V případě výskytu těchto příznaků musí být vhodně upravena rehabilitace a další aktivity. Při přetrvávání symptomů je indikována artroskopie. Při hypertrofii periostu a prominenci nad úroveň okolní kloubní chrupavky prominující nadbytečnou tkáň odstraníme – seřízneme tangenciálně ke kloubní ploše shaverem, méně agresivním násadcem vyhladíme rozvlákněné části. Použití RF (radiofrekvenční) tepelné energie je kontraindikováno, průnik tepla do různé hloubky tkáně může způsobit nekrózu a zánik buněk. Další možnou komplikací je oddělení (delaminace) periostálního štěpu. Minas popsal klasifikaci v závislosti na rozsahu uvolnění štěpu. Marginální (okrajové) uvolnění je definováno jako uvolnění méně než 10 mm štěpu. Tato malá oblast (plocha) může být excidována (odstraněna), obnažená subchondrální kost je ošetřena mikrofrakturami nebo návrty s cílem pokusit se vyplnit defekt vazivovou chrupavkou. Parciální (částečné) uvolnění je definováno jako uvolnění méně než 50% štěpu, ale se ztrátou více než 1 cm tkáně. Léčení tohoto stupně uvolnění je kontroverzní. Může být ošetřeno reimplantací chondrocytů nebo jako předchozí stupeň (marginální uvolnění) debridement a mikrofrakturami nebo návrty. Při uvolnění více než 50% štěpu hovoříme o totálním (úplném) uvolnění štěpu, které by mělo být ošetřeno reimplantací chondrocytů.

Další příčinou selhání může být přetížení štěpu v době zrání, např. úraz kolena v průběhu 6 měsíců po transplantaci nebo přetížení v kritickém období pooperační rehabilitace. Oba případy podtrhují důležitost postupné šetrné rehabilitace. Pacient používá rehabilitační ortézu alespoň prvních 6 týdnů po operaci, než získá dobrou kontrolu funkce a zátěže končetiny. Pacient musí pochopit nutnost dodržet pooperační rehabilitační schéma k dosažení co nejlepšího výsledku. Ačkoliv po 6 měsících nejsou ještě implantované

chondrocyty úplně zralé a vyvinuté, štěp je obvykle dostatečně pevný a je integrován s okolní chrupavkou, takže je schopen již odolat větší zátěži.

Každá artrotomie je zatížena rizikem vzniku artrofibrózy a tvorby adhezí. Riziko se zvětšuje u pacientů se současně prováděnými dalšími operacemi (osteotomie tuberosity tibie, vysoká osteotomie tibie). Klíčem k zabránění je časná mobilizace. S kontinuálním pasivním pohybem (CPM) by se mělo začít bezprostředně po operaci. Důležitou součástí časné pooperační rehabilitace je mobilizace pately a obnovení plné extenze. Pokud dojde k artrofibróze bývá její terapie závažným problémem. Metodou první volby je vhodný agresivní rehabilitační program, spíše než okamžitý redres, který může štěp poškodit. Nicméně když nedochází k zlepšení v průběhu 4 až 6 měsíců je vhodné artroskopické uvolnění adhezí s šetrnou manipulací. Tuhé jizevnaté tkáně nalézáme zejména v přední části kolena a v suprapatelárním prostoru. Jizvy uvolníme a snášíme radiofrekvenční sondou a velkou resekční frézou. Následuje agresivní rehabilitační program. Ze zkušeností se zdá, že artrofibróza konečný výsledek transplantace autologních chondrocytů neovlivní.

12.7.4. Rehabilitace

Rehabilitace po transplantaci autologních chondrocytů je pomalý a postupný proces. Musí být brán zřetel na biologický původ novotvořené chrupavčité tkáně. Hojivý proces vyžaduje rovnováhu mezi přiměřenou stimulací buněk k tvorbě matrix a ochranou štěpu. Existují různé individuální úpravy. Rehabilitační program musí odpovídat stavu a potřebám pacienta, velikosti a lokalizaci léze a možným průvodním operacím. Důležitý je pravidelný kontakt mezi pacientem, fyzioterapeutem a lékařem zejména v prvních 3 měsících po operaci. Příliš agresivní program může štěp a novotvořenou tkáň ohrozit. Základní principy úspěšného rehabilitačního programu po transplantaci autologních chondrocytů jsou cvičení pohyblivosti, ochrana štěpu, posílení svalů, postupná zátěž a osvěta pacienta. Pohyb slouží k stimulaci novotvorby tkáně a zamezení ztuhnutí kloubu. Nicméně ochrana novotvořené reparační tkáně před nadměrnou zátěží je v časné fázi nezbytná. Předčasná zátěž může vést k uvolnění a selhání štěpu. CPM a chůze se simulací zátěže operované končetiny (touch-weight-bearing) by měla být prvním krokem rehabilitace. Časně jsou zahájeny izometrické posilovací cviky, postupně následují cviky proti odporu a návrat k většině funkčních aktivit. Zvláštní režim je nutný po transplantaci autologních chondrocytů v oblasti patelofemorálního kloubu. Patelofemorální tlak je nejvyšší mezi 40 - 70° flexe a musí být omezen při aktivní extenzi kolena. Časně je třeba zahájit mobilizaci pately, abychom zabránili vzniku adhezí. Aktivní extenze v kolenním kloubu není většinou doporučována v průběhu prvních 12 týdnů

po operaci. Doporučována je pasivní hybnost, buď CPM nebo s pomocí zdravé dolní končetiny. Operatér musí poučít pacienta, aby pochopil jak po transplantaci autologních chondrocytů tkáň zraje a jak se mění její vlastnosti.

13. Biomateriály pro transplantaci chondrogenních buněk

Momentálně se intenzivně pracuje na dalším vývoji transplantace autologních chondrogenních buněk. Cílem je vyvinout vysoce funkční bioarteficiální transplantát, který umožní biologickou rekonstrukci pokročilých poškození kloubní chrupavky. K tomu účelu se experimentuje s různými biomateriály, různými typy buněk, růstovými faktory a jinými stimulačními faktory. Výzkum je zaměřen na hledání různých biologických materiálů a syntetických polymerů, které by mohly sloužit jako nosič (biologické lešení) pro transplantované buňky. Nosiče umožňují snadnější aplikaci buněk do defektu a minimalizují počet buněk ztracených v synoviální tekutině.

Vhodný nosič musí splňovat přísná kritéria. Musí být biokompatibilní. Měl by být chrupavčitými buňkami snadno a homogenně osídlitelný a umožnit jim vrůst do své struktury. V individuálně předurčeném čase resorpce by měl buňkám nabídnout mechanickou podporu, trojrozměrné uspořádání v prostoru, popřípadě umožnit stabilizaci chondrogenního fenotypu. Měl by se dobře resorbovat bez produkce škodlivých metabolitů. Mimo to by měl být lehce formovatelný, mít vhodnou tvrdost a elasticitu, být v defektu snadno fixovatelný, umožnit ošetření neohrazených defektů (non-containment). Musí umožnit integraci regenerátu ke zdravé kosti a chrupavce v okolí a podpořit rovnoměrnou výstavbu novotvořené chrupavčité matrix v defektu. V pokusných modelech jsou používány velmi rozdílné nosné materiály.

Jak již bylo zmíněno, vedle různých biomateriálů se pracuje také s buňkami různého původu. Zvýšená pozornost se nyní věnuje mezenchymálním kmenovým buňkám. Některým badatelům se podařilo z kmenových buněk diferencovat buňky s vlastnostmi chrupavčitých buněk. Efektivita existujících metod diferenciací chondrocytů z kmenových buněk je pro klinické použití zatím malá. Navíc je indukovaný fenotyp přinejmenším in vitro většinou nestabilní a buňky mají sklon hypertrofovat a apoptoticky hynou. Podobně jako v růstové chrupavce, ubývá zde syntézy kolagenu typu II a přibývá syntézy kolagenu typu I a X. Dále se ukazuje, že kmenové buňky, které se in vitro diferencují do chondrogenních buněk vykazují často srovnatelný vzor genové exprese, jaký byl izolován z artrotické chrupavky.

13.1. Biomateriály přirozeného původu

Nosiče založené na kolagenu. Biomateriály založené na kolagenu zvířecího původu jsou již mnoho let používány v různých oblastech chirurgie (např. zástava krvácení, náhrada dury, kosmetická chirurgie). Kolageny jsou považovány za vysoce konzervované proteiny. To znamená, že vykazují velkou identitu mezi jednotlivými druhy. Produkty jejich metabolismu, které vznikají během enzymatického odbourávání, jsou fyziologické a nepůsobí toxicky. Ve srovnání s jinými biomateriály (např. agaróza nebo alginát), mají významně lepší resorpční vlastnosti a zpravidla větší biokompatibilitu. Již delší dobu jsou používány jako membrány k překrytí defektu.

Gille a spol. však našli až 40 % apoptotických chondrocytů, které *in vitro* kultivovali na membráně z kolagenu typu I / III. Schuman popsal značné rozdíly ve výsledcích při kultivaci chondrocytů v různých kolagenních gelech. Experimentální zkušenosti s kolagenními nosiči ukázaly, že mohou v humánních chondrocytech indukovat Interleukin-1 (IL-1) a následnou represi kolagenu typu II. Existují však výrazné rozdíly mezi kolagenními biomateriály různých výrobců a i mezi stejnými typy nosičů jsou rozdíly závislé na šarži. To znamená, že rozsah tohoto efektu a dalších vlastností je ovlivněn surovinovým zdrojem používaného kolagenu a způsobem zpracování materiálu pro výrobu nosiče. Byly popsány např. zánětlivé reakce po používání želatiny, která se skládá převážně z denaturovaného kolagenu. Na tom se pravděpodobně podílí určité kolagenní fragmenty, u kterých bylo v různých experimentech prokázáno, že mohou v lidských i zvířecích chondrocytech indukovat katabolické procesy a zánětlivý mediátor IL-1. Také můžeme u některých šarží kolagenního gelu zjistit po počáteční dobré syntéze matrix postupnou hypertrofií obsažených chondrocytů. Zda je tato skutečnost způsobena kolagenními úlomky není momentálně jisté. Na druhou stranu existují upozornění na to, že tyto *in vitro* pozorované úkazy se *in vivo* nevyskytují ve stejné formě, protože synoviální tekutina fyziologicky obsahuje antagonisty receptorů pro IL-1 a jiné protizánětlivě působící substance. Navíc je zbytková aktivita enzymů degradujících nosič v lůžku pro transplantát užitečná pro dobrou integraci regenerátu do jeho okolních struktur. Přesto by se mělo zabránit zánětlivé remodelaci nosiče *in vivo*, protože výsledkem takového procesu je většinou vznik funkčně méněcenné zjizvené tkáně.

Vedle biomateriálů z kolagenu typu I se nyní experimentuje také s nosiči založenými na kolagenu typu II. Představou je, že tento typ kolagenu spíše odpovídá fyziologickému prostředí chondrocytů a proto zlepšuje jejich specifický metabolismus.

Také se zkouší kombinovat kolagenní nosiče s jinými složkami mezibuněčné hmoty. Kombinace kolagenního nosiče s 2 % kyseliny hyaluronové vedla *in vitro* k významnému

zlepšení metabolismu chondrocytů. Při 10 % koncentraci kyseliny hyaluronové však byla syntéza matrix ve srovnání se samotným kolagenním nosičem bez přídavku kyseliny hyaluronové opět horší. Podobné výsledky byly popsány při doplnění kolagenního nosiče chondroitinsulfátem. Pozitivní efekt obou fyziologických nekolagenních komponent základní hmoty chrupavky zřejmě spočívá v jejich antagonistickém působení na prozánětlivě působící mediátory.

Na základě jejich nevhodné struktury lze u většiny komerčně vyráběných kolagenních membrán dosáhnout pouze povrchového osídlení buňkami. Naproti tomu v kolagenních roztocích mohou být buňky suspendovány. Prostřednictvím zgelování suspenze kolagenu a buněk lze docílit homogenního 3-dimenzionálního rozdělení buněk. Přes dobrou modelovatelnost jsou však gely jako nosný materiál k ošetření špatně ohraničených defektů málo vhodné. Nyní je některé pracovní skupiny kombinují se syntetickými polymery.

Ke zlepšení biochemických, strukturálních a fyzikálních vlastností kolagenních nosičů jsou v poslední době vyvíjeny nové výrobní postupy. Touto technikou lze vyrobit vysoce čisté kolagenní houby (membrány) s definovanou architekturou a velikostí pórů, přičemž také v těchto nosičích je možné dosáhnout homogenního 3-dimenzionálního (trojrozměrného) rozložení buněk. Také se dá ovlivnit resorpční čas houby (membrány) prostřednictvím stupně příčné pospojování kolagenních vláken. Povrchová plocha porózní houby (membrány) může být na jedné straně uzavřená (hladká). Tím vzniká ochrana proti invazi nespecifických buněk a difúzní bariéra pro vysokomolekulární substance zadržující transplantovanými chondrocyty v nosiči nově syntetizované komponenty matrix. Tento nosič může být díky svým vlastnostem použit pro transplantaci autologních chondrocytů při ošetření defektů bez ohraničení. Ke zlepšení metabolismu chondrocytů může být do chondrocytárního nosiče integrována některá z výše zmíněných nekolagenních komponent matrix, která má definovanou koncentraci a molekulovou velikost a přispívá ke zlepšení metabolismu chondrocytů.

Nosiče z kyseliny hyaluronové. Kyselina hyaluronová může jako fyziologická složka základní hmoty chrupavky vytvořit makromolekuly s extrémní délkou a velkou molekulovou hmotností. V nemodifikované formě má vysokou biokompatibilitu, navíc jsou jí připisovány antiflogistické vlastnosti. Teoreticky představuje vynikající výchozí substanci pro výrobu nosičů. Aby bylo možné vyrobit z kyseliny hyaluronové biomateriál s vhodnými strukturálními a fyzikálními vlastnostmi pro transplantaci chondrocytů, musí být její molekulové řetězce příčně pospojovány. To je možné esterifikací s různými alkoholy, což však v závislosti na rozsahu, vede k zhoršení biokompatibility. V experimentu na zvířatech

některé studie prokázaly příznivé účinky vysokomolekulárního hyaluronátu na diferenciaci chondrogenních buněk z kmenových buněk kostní dřeně.

Při použití nosiče z esterifikované kyseliny hyaluronové byla popsána regenerace chrupavky podobné hyalinní. Její degradační produkty však mohou za určitých okolností vést k reakcím z nesnášenlivosti a chondrolýze. Vzhledem k menší primární stabilitě je tento typ nosiče méně vhodný k ošetření větších defektů nebo defektů bez ohraničení. V současné době jsou vylepšovány metody chemické modifikace kyseliny hyaluronové, aby byla zlepšena funkčnost a biokompatibilita nosičů z kyseliny hyaluronové pro klinické použití.

Alginát a agaróza. Alginát je kopolymer z manuronátu a guluronátu, který se získává z hnědých řas. Přidáním kalcia (kalciumchelátu) může být tento materiál zgelován nebo znovu zkapalněn. Ve vznikajícím gelu je možné dosáhnout rovnoměrného rozložení buněk a z rozpuštěného gelu mohou být buňky relativně snadno centrifugací znovu získány a použity k buněčné a molekulárně biologické analýze.

V agaróze a v gelu z alginátu tvoří chondrocyty svoji in vivo typickou sférickou buněčnou morfologii. Pro oba biomateriály byl prokázán fenotyp stabilizující účinek na chondrocyty různého původu, který je pravděpodobně způsoben jejich strukturální podobností (zejména hustota) s proteoglykany typickými pro chrupavku. Mimoto mají obě substance rediferencující účinek na předtím dediferencované chondrocyty. Lidské chrupavčité buňky dospělého dárce syntetizují v alginátu extracelulární matrix, která se složením velmi přibližuje nativní chrupavčité matrix. Na základě popsaných vlastností je agaróza a obzvláště alginát často používán in vitro jako biomateriál pro výzkum regulačních signálních mechanismů chondrogenese nebo pro výzkum vzniku artrózy.

Některé pracovní skupiny se pokoušejí pomocí alginátu vyrobit beznosičové buněčné transplantáty tím, že se nechají chrupavčité buňky v alginátu tvořit extracelulární matrix, aby následně odejmutím kalcia alginát znovu odstranili. Zda toto principiálně velmi elegantní řešení nakonec povede ke klinicky použitelnému transplantátu, musí ukázat další výzkum. Přes vynikající vlastnosti in vitro, byly výsledky alginátu a agarózy jako biomateriálu pro biologickou rekonstrukci chrupavky in vivo doposud zklamáním. Obě substance mají méně vhodné resorpční vlastnosti a v experimentu na zvířeti vyvolávají značné imunitní reakce a reakce na cizorodý materiál. Proto není agaróza ani alginát jako nosič pro transplantaci chondrogenních buněk u člověka používán.

Fibrin. Fibrinogen a jeho polymerizovaná forma, fibrin, představují přirozenou složku krve a extravaskulárního prostoru. Má důležitou funkci při hojení ran, což je významné také při poškození chrupavky s obnažením subchondrální ploténky. Tato vlastnost je terapeuticky

využívána při postupech stimulujících kostní dřev ve formě fibrinové sraženiny.

Polymerizovaný fibrin tvoří 3-dimenzionální (trojrozměrný) nosič, který udržuje krevní výron s jeho buněčnými složkami v místě defektu a ve spojení s mediátory z trombocytů a růstovými faktory ze subchondrální kosti působí jako podnět pro mesenchymální buněčnou populaci. Samotný fibrin má nepatrnou vnitřní a mechanickou stabilitu. Indukuje vlastní resorpci prostřednictvím celulárních mechanismů. Jeho rozpadové produkty jsou fyziologické a zpravidla nepůsobí cytotoxicky.

V rámci konvenční transplantace autologních chondrocytů se používá exogenní fibrin jako fibrinové lepidlo k utěsnění periostální záplaty nebo ke stavění krvácení během preparace defektu. Fibrinové deriváty různého složení jsou již také používány jako nosič pro chondrogení buňky nebo jako bezbuněčná biomatrix ve spojení s růstovými faktory pro regeneraci osteochondrálních defektů. Nemodifikované komerčně dodávané fibrinové lepidlo se přitom ukázalo jako málo vhodné. Fibrin se používá ke zlepšení adheze buněk k biomateriálu nebo ke spojení kombinovaných biologických nosičů. Pomocí fibrinového lepidla se fixují nosiče s chondrocyty do místa defektu. Na zvířecím modelu bylo prokázáno, že ploché fragmenty chrupavky nemůžou být stabilně připojeny pouze samotným fibrinovým lepidlem a také že přímý kontakt chondrocytů s fibrinem může vést k odbourání chrupavky. Na základě nefyziologické koncentrace a vysoké proteinové hustoty fibrinového lepidla je znesnadněna invaze (pronikání) buněk do jeho struktur. V experimentech se zvířaty se zjistil brzdící vliv fibrinového lepidla na výstavbu chrupavky. Použití fibrinového lepidla k fixaci biomateriálů s obsahem buněk *in vivo* není proto bez rizika.

Chitosan. Chitosan je druhý nejčastěji se vyskytující polymer přírodního původu na Zemi. Získává se z chitinu, což je látka, která je obsažena ve vnějším skeletu zvířat s ulitou, jako jsou raci a krabi. Kopolymer se skládá z glukosaminu a N-acetylglukosaminu, který může být spojen příčnými vazbami s chondroitinsulfátem, čímž se vytvoří hydrogel. Chitosan je biokompatibilní a *in vivo* má vynikající degradační vlastnosti. Produktům jeho hydrolyzy jsou připisovány antimikrobiální vlastnosti. V různých experimentech *in vitro* byly prokázány příznivé účinky chitosanu na metabolismus výměnu osteo- a chondogenních buněk různého původu. Může být také použit jako nosič pro růstové faktory.

Dosud nebyla předložena dostatečně rozsáhlá data z experimentů na zvířatech s chitosanem, sloužícím jako nosič pro transplantaci chondrogeních buněk. Existují pozitivní zkušenosti s biopolymerem k profylaxi vzniku pooperačních adhezí v chirurgii. Souhm těchto popsaných vlastností činí z chitosanu zajímavou látku, na kterou bude v budoucnosti jistě

zaměřena pozornost v tkáňovém inženýrství chrupavky. Toto platí zejména o kombinaci s jinými biomateriály jako je např. želatina nebo syntetické polymery.

13.2. Synteticky vyráběné biomateriály

PLA/PGA polymery. V minulosti asi nejpoužívanější představitelé syntetických polymerů pro tkáňové inženýrství chrupavky jsou sloučeniny na základě kyseliny mléčné nebo glykolové (polylactic acid- PLA nebo polyglycolic acid- PGA). Jejich podstatnou výhodou je vedle nezvířecího původu materiálu jeho vyšší primární stabilita, která se dá měnit volbou monomerních podjednotek polymeru, počtem příčných vazeb, silou vláken a jejich svázání. Proto mají ve srovnání s již zavedenými biomateriály lepší biomechanické vlastnosti. Prostřednictvím odpovídajících modifikací lze z polymerů vyrobit struktury typu porézní membrány nebo houby. Zkoumá se, zda může být příznivě ovlivněno zachování chondrogenního fenotypu optimalizací geometrie nosiče. Bez ohledu na relativně rychlou dediferenciace chondrocytů a malou adhezi buněk k vláknům tohoto polymeru dochází in vitro k značnému poklesu difúze nově syntetizovaných molekul mezibuněčné hmoty do média. Ke zlepšení výsledků se nyní nosiče z PLA/PGA často kombinují s jinými biomateriály (fibrinové lepidlo, chitosan, kolagen, alginát atd.)

V minulých letech v mnoha studiích byly různé chemické a geometrické varianty obou polymerů osídleny chrupavčitými, periostálními nebo mezenchymálními kmenovými buňkami. Snahou je pomocí různé hustoty buněk, různými podmínkami v kulturách, pomocí růstových a diferenciacních faktorů, mechanických vlivů a dalších stimulů in vitro připravit bioarteficiální náhradu chrupavky. Přes částečně působivé výsledky se ale zatím neprojevila výhoda těchto polymerů jako nosiče k transplantaci chondrogenních buněk in vivo proti jiným biomateriálům. Ve srovnávací studii na zvířatech s různými nosiči pro transplantaci chondrocytů byly histologické výsledky se dvěma různými polymerovými rouny dokonce horší než s lyofilizovanou durou. Je nutno přihlížet k tomu, že při resorpci PGA/PLA vznikají kyselé valence, které vedou ke snížení lokální hodnoty pH. Dále mohou jejich degradační produkty působit cytotoxicky. V pokusech na zvířeti byly pozorovány zánětlivé procesy a reakce na cizorodý materiál. Obě polymerové formy jsou proto považovány za materiály s malou biokompatibilitou a neuspokojivými tkáňově integračními vlastnostmi. Proto někteří autoři nedoporučují polymery PGA/PLA, které jsou momentálně k dispozici, jako nosiče pro biologickou rekonstrukci chrupavky u člověka.

Další syntetické materiály. Pro biologickou rekonstrukci chrupavky se také experimentuje s jinými syntetickými materiály jako je polyuretan, polybutyrové kyseliny,

polyethylentereftalát (Dacron), polytetrafluoroethylen (Teflon). Na základě doposud špatných výsledků z pokusů na zvířeti a ve srovnání s jinými materiály malé biokompatibilitě in vivo, věnuje těmto materiálům pozornost jen malá část pracovních skupin zabývajících se tkáňovým inženýrstvím kloubní chrupavky. Podstatnou výhodou určitých syntetických sloučenin je jejich schopnost vytvořit různé struktury. Tak je možné vyrobit např. z derivátů polybutylentereftalátu tekuté formy, síťovité nebo houbovité struktury s variabilní porózitou a povrchovou strukturou. Pro tyto potenciální biomateriály zatím existuje jen málo in vivo údajů. Vedle již vyjmenovaných materiálů existuje dnes celá řada dalších syntetických nosičů ve vývoji. Sem patří také různé hydrogely, které mohou udržet přinejmenším in vitro chondrogenní fenotyp buněk a syntézu matrix typické pro chrupavku. Kompozity z peptidových hydrogelů a chondrocytů vyvíjejí při vhodném míchání histologické struktury, které se podobají hyalinní chrupavce. V prvních experimentálních pokusech na zvířatech mohlo být dosaženo slibných výsledků. Ale také u těchto materiálů byla popsána nedostatečná biokompatibilita.

Keramické biomateriály a bifázické nosiče. Z biogenních nebo synteticky získaných minerálních látek, jako je hydroxyapatit nebo trikalciumfosfát lze vyrobit nosič s různou hustotou a porózitou. V různých studiích se ukázalo, že na těchto keramických materiálech mohou růst chondrocyty a částečně se také mohou odbourávat. Při výrobě bifázického nosiče se kombinují minerálové nosiče s jinými biomateriály. V jedné experimentální studii na zvířatech byly vloženy chondrocyty do fibrinového lepidla na hydroxyapatitu a implantovány do osteochondrálních defektů kozy. Výsledky však byly špatné. Za jeden rok se objevila fibrotická jizevnatá tkáň se špatnou remodelací kosti a insuficientní stabilitou regenerátu. Podle názoru autorů studie byly špatné výsledky studie způsobeny především nedostatečnou fixací hydroxyapatitového implantátu v ploše defektu. K biologické rekonstrukci poškození chrupavky zásadně nemohou být doporučeny nosiče v případě nefyziologických koncentrací kalcia nebo fosfátu. Vysoká extracelulární koncentrace kalcia může přinejmenším in vitro indukovat hypertrofický fenotyp. Ve spojení s fosfátem může vyvolat apoptózu chrupavčitých buněk, což je mechanismus buněčného suicidia, který je možná významný při progresi osteoartrózy během kalcifikace chrupavčité matrix in vivo.

Vedle popsaných keramických látek se zkouší vyrobit bifázické buněčné nosiče i s pomocí jiných biomateriálů. Takové konstrukce mohou být na jedné straně osídleny osteogenními a na druhé straně chondrogenními buňkami a posléze mohou být inkubovány v bioreaktoru v médiu, které je optimální pro daný buněčný typ. Cílem je dosáhnout již při

implantaci vyšší stability in vitro generované chrupavky a v budoucnu s takovým transplantátem biologicky rekonstruovat větší osteochondrální defekty.

13.3. Shrnutí

Jakmile dojde k uzavření růstových chrupavek, lze častěji pozorovat klinicky symptomatická poškození chrupavky kolena, například následkem traumatu nebo u disekující osteochondrózy. U neošetřených defektů se zvyšuje riziko vzniku artrózy. K zabránění vzniku artrózy by měla být taková poškození chrupavky pokud možno co nejdříve biologicky rekonstruována. První dlouhodobé a 2 až 5leté výsledky prospektivních randomizovaných studií ukazují, že transplantace autologních chondrocytů zejména u větších poškození chrupavky mají lepší výsledky než jiné postupy.

Hlavní nevýhodou konvenční transplantace autologních chondrocytů je časově náročné přišíití periostální záplaty přes předem preparovaný chrupavčitý defekt s nebezpečím jejího časného odtržení. Pro odběr a přišíití periostální záplaty je často potřebná rozsáhlá artrotomie, která je spojena se značnými pooperačními obtížemi. K řešení těchto problémů jsou v současné době in vitro a in vivo zkoumány různé biomateriály přirozeného nebo syntetického původu, které ve formě nosičů umožňují miniinvazivní transplantaci chondrocytů. Dosud známé syntetické nosiče mají buď nedostatečnou biokompatibilitu nebo nemohou dostatečně stabilizovat diferenciační stupeň chondrogenních buněk. Fenotyp typický pro chondrocyty se ukázal být v experimentech na zvířatech obzvláště důležitý pro biologicky cennou rekonstrukci chrupavky. Matrice z esterifikované kyseliny hyaluronové mohou pozitivně ovlivnit fenotyp chondrogenních buněk, ale na druhou stranu nejsou vzhledem ke svým biomechanickým vlastnostem vhodné pro rekonstrukci defektů chrupavky bez ohraničení. To samé platí také pro matrice z fibrinu nebo pro kolagenní gely. Přes dobré výsledky in vitro nejsou alginát a agaróza pro jejich obtížnou degradaci in vivo a pro špatnou biokompatibilitu doporučovány. V současné době se vyvíjejí metody k zlepšení snášenlivosti alginátu. Biomateriály založené na chitosanu mají řadu zajímavých vlastností, musí se však teprve osvědčit v pokusech na zvířatech. Kombinací s keramickými materiály z hydroxyapatitu nebo trikalciemfosfátu lze připravit bifázické buněčné nosiče. Výsledky biologické rekonstrukce osteochondrálních defektů s pomocí kompozitů z fibrinu, chondrocytů a hydroxyapatitu v experimentální studii na zvířatech jsou ale špatné.

Literatura

1. BAUMGAERTNER, M. R., CANNON, W. D., VITTORI, J. M. et al.: Arthroscopic debridement of the arthritic knee. *Clin Orthop.*, 1990; 253:197-202.
2. BLEVINS, F. T., STEADMAN, J. R., RODRIGO, J. J. et al.: Treatment of articular cartilage defects in athletes: an analysis of functional outcome and lesion appearance. *Orthopedics*, 1998; 21: 761-768.
3. BRITTBURG, M., LINDAHL, A., HOMMINGA, G. et al.: A critical analysis of cartilage repair. *Acta Orthop Scand.*, 1997; 68: 186-191.
4. BRITTBURG, M., LINDAHL, A., NILSSON, A. et al.: Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation. *N Engl J Med.*, 1994; 331: 889-895.
5. BRITTBURG, M., NILSSON, A., LINDAHL, A. et al.: Rabbit articular cartilage defects treated with autologous cultured chondrocytes. *Clin. Orthop.*, 1996; 326: 270-283.
6. BRITTBURG, M., WINALSKI, C. S.: Evaluation of cartilage injuries and repair. *J. Bone Jt Surg.*, 85-A, suppl. 2: 58-69, 2003
7. BROWNE, J. E., BRANCH, T. P.: Surgical alternatives for treatment of articular cartilage lesions. *J Am Acad Orthop Surg.*, 2000; 8: 180-189.
8. BUCKWALTER, J. A., MANKIN, H. J.: Articular cartilage: part I. Tissue design and chondrocyte-matrix interactions. *J. Bone Jt Surg.*, 1997; 79-A: 600-611.
9. BUCKWALTER, J. A., MANKIN, H. J.: Articular cartilage: part II. Degeneration and osteoarthritis, repair, regeneration and transplantation. *J. Bone Jt Surg.*, 1997; 79-A: 612-632.
10. BURSTEIN, D., GRAY, M.: New MRI techniques for imaging cartilage. *J. Bone Jt Surg.*, 85-A, suppl. 2:70-77, 2003
11. CAMOSSO, M. E., MAROTTI, G.: The mechanical behavior of articular cartilage under compressive stress. *J. Bone Jt Surg.*, 1962; 44-A: 699-709.
12. CURL, W. W., KROME, J., GORDON, E. S. et al.: Cartilage injuries: a review of 31,516 knee arthroscopies. *Arthroscopy* 1997; 13: 456-460.
13. FURUKAWA, T., EYRE, D. R., KOIDE, S. et al.: Biochemical studies on repair cartilage resurfacing experimental defects in the rabbit knee. *J. Bone Jt Surg.*, 1980; 62-A: 79-89.
14. GAISSMAIER, Ch., FRITZ, J., BENZ, K. et al.: Biomaterialien für die Transplantation chondrogener Zellen zur biologischen Rekonstruktion artikulärer Knorpeldefekte. Ausgabe 16, *Arthroscopie Aktuell*

15. GARRETT, J. C.: Freshosteocondral allografts for treatment of articular defects in osteochondritis dissecans of the lateral femoral condyle in adults. *Clin. Orthop.*, 1994; 303: 33-37.
16. GIBSON, J. N., WHITE, M. D., CHAPMAN, V. M. et al.: Arthroscopic lavage and debridement for osteoarthritis of the knee. *J. Bone Jt Surg.*, 1992; 74-B: 534-537.
17. GILLOGY, S. D., HAMBY, T. S.: Treatment of complex articular surface injuries. In: *Operative Arthroscopy*. Philadelphia, Lippincott Williams&Wilkins 2003, 294-314
18. GRANDE, D. A., PITMAN, M. I., PETERSON, L. et al.: The repair of experimentally produced defects in rabbit articular cartilage by autologous chondrocyte transplantation. *J Orthop Res.*, 1989; 7: 208-218.
19. HANGODY, L., KISH, G., KARPATI, Z. et al.: Autogenous osteochondral graft technique for replacing knee cartilage defects in dogs. *Orthop Int.*, 1997; 5: 175-181.
20. HEFTI, F., MÜLLER, W., JAKOB, R. P., STAUBLI, H. U.: Evaluation of knee ligament injuries with the IKDC form. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.*, 1: 226-234, 1993
21. HOMMINGA, G. N., BULSTRA, S. K., BOUWMEESTER, P. M. et al.: Perichondral grafting for cartilage lesions the knee. *J. Bone Jt Surg.*, 1990; 72-B:1003-1007.
22. HUBBARD, M. J.: Articular debridement versus washout for degeneration of the medial femoral condyle: a five-year study. *J. Bone Jt Surg.*, 1996; 78-B: 217-219.
23. INSALL, J.: The Pridie debridement operation for osteoarthritis of the knee. *Clin. Orthop.*, 1974; 181: 61-67.
24. International Cartilage Repair Society. ICRS Cartilage Injury Evaluation Package. <http://www.cartilage.org>
25. JACKSON, D. W., SCHEER, M. J., SIMON, T. M.: Cartilage substitutes: Overview of basic science and treatment options. *J Am Acad Orth Surg.*, 2001; 1: 37-52.
26. JOHNSON, L. L.: Arthroscopic abrasion arthroplasty historical and pathologic perspective: present status. *Arthroscopy*, 1986; 2: 54-69.
27. JOHNSON-NURSE, C., DANDY, D. J.: Fracture-separation of articular cartilage in the adult knee. *J. Bone Jt Surg.*, 1985;67-B: 42-43.
28. Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS). <http://www.koos.nu>
29. LIVESLY, P. J., DOHERTY, M., NEEDOFF, M. et al.: Arthroscopic lavage of osteoarthritic knees. *J. Bone Jt Surg.*, 1991; 73-B: 922-926.
30. MADELBAUM, B. R., BROWNE, J. E., FU, F. et al.: Articular cartilage lesions of the knee. *Am J Sports Med.*, 1998; 26: 853-861.

31. MAINIL-VARLET, P., AIGNER, T., BRITTBERG, M. et al.: Histological assessment of cartilage repair. *J Bone Jt Surg.*, 85-A,suppl. 2: 45-57, 2003
32. MANKIN, H. J., MOW, V. C., BUCKWALTER, J. A. et al.: Articular cartilage structure, composition, and function. In: Buckwalter, J. A., Einhorn, T. A., Simon, S. R. (eds.): *Orthopaedic basic science: biology and biomechanics of the musculoskeletal system*. Rosemont: American Academy of Orthopaedic Surgeons, 2001; 443-470.
33. MANKIN, H. J.: The response of articular cartilage to mechanical injury. *J. Bone Jt Surg.*, 1982; 64-A: 460-466.
34. McCAULEY, T. R., DISLER, D. G.: Magnetic resonance imaging of articular cartilage of the knee. *J Am Acad Orthop Surg.*, 9, 2-8, 2001
35. 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.*, 1996; 67: 165-168.
36. MINAS, T., NEHRER, S.: Current concepts in the treatment of articular cartilage defects. *Orthopedics*, 1997; 20: 525-538.
37. MINAS, T.: Treatment of chondral defects in the knee. *Orthopedics*, 1997; 3: 69-74.
38. O'DRISCOLL, S. W.: The healing and regeneration of articular cartilage. *J. Bone Jt Surg.*, 1998;80-A: 1795-1812.
39. OUTERBRIDGE, R. E.: The etiology of chondromalacia patellae. *J. Bone Jt Surg.*, 43-B:752-757, 1961
40. PETERSON, L., MINAS, T., BRITTBERG, M. et al.: Two- to 9-year outcome after autologous chondrocyte transplantation of the knee. *Clin. Orthop.*, 2000; 374: 212-234.
41. PETERSON, L.: Cartilage cell transplantation. In: Malek, M. M. (ed.): *Knee surgery: complications, pitfalls and salvage*. New York, Springer 2001; 440-449.
42. PODŠKUBKA, A.: Poranění kloubní chrupavky. In: Dungal, P. (ed.): *Ortopedie*. Praha, Grada Publishing 2005, 978
43. RICHARDSON, J. B., CATERSON, B., EVANS, E. H. et al.: Repair of human articular cartilage after implantation of autologous chondrocytes. *J. Bone Jt Surg.*, 1999; 81-B: 1964-1968.
44. STEADMAN, J. R., RODKEY, W. G., SINGLETON, S. B. et al.: Microfracture technique for full-thickness chondral defects technique and clinical results. *Oper Tech Orthop.*, 1997; 7: 300-304.
45. TERRY, G. C., FLANDRY, F., VAN MANEN, J. W. et al.: Isolated chondral fractures of the knee. *Clin. Orthop.*, 1988; 234: 170-177.

46. ZUKOR, D. J., GROSS, A. E.: Osteochondral allograft reconstruction of the knee. *Am J Knee Surg.*, 1989; 2: 139-149.

II. Vlastní práce

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

Práce vznikla za podpory grantu IGA MZ ČR č. ND/7375-3

1. Úvod a cíl

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 nepronikne subchondrální kostí, 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 časně degeneraci /21/.

Celková incidence traumatických lézí kloubní chrupavky je neznámá, protože klinicky může být izolované trauma kloubní chrupavky asymptomatické nebo se projevit až po určitém čase. Udává se, že 5-10% pacientů s akutním pourazovým hemartrosem kolena má hluboký defekt kloubní chrupavky /7, 23/. Poranění kloubní chrupavky jsou obvykle zjištěny 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 dle 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 nedostatečnou schopnost regenerace kloubní chrupavky. Operační techniky jako návrtý, abraze a mikrofraktury subchondrální kosti (kostní dřeň 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 souvisí s odběrem periostálního štěpu, nestandardní kvalitou periostu, jeho fixací, možnostmi 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 prodělává 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 hyaluronové. 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 zkušenosti s touto metodou ošetření hlubokých chondrálních defektů. Odoperovaní pacienti byli zhodnoceni v prospektivní studii. Cílem studie bylo 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 nález a mechanické vlastnosti chrupavky. Biopsie odebrané z novotvořené tkáně v místě implantace Hyalograftu C byly vyšetřeny histologicky, histochemicky a imunohistochemicky.

2. 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). Indikovaní pacienti byli seznámeni s možnostmi ošetření chondrálního defektu. Pacienti, kteří projevíli zájem o transplantaci autologních chondrocytů, podepsali informovaný souhlas, byli zařazeni do studie. Primární indikací byl pórůrazový 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 11 pacientů. Výsledky byly zhodnoceny u 8 pacientů (7 mužů, 1 žena) s dobou sledování delší než 9 měsíců a s kompletní pooperační dokumentací (2 pacienti byli v době hodnocení méně než 6 měsíců po operaci a jeden pacient se nedostavil ke kontrolní artroskopii). Průměrný věk pacientů v době operace byl 31 let (25-41). U 6 pacientů byla etiologie defektu jednoznačně pórůrazová, v anamnéze měli větší úraz a průměrná doba obtíží před operací byla 4,3 měsíce. U 2 pacientů byly zjištěny degenerativní změny a průměrná doba obtíží byla 4,5 roku. 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, 6x na mediálním (MKF) a 2x na laterálním (LKF).

Všichni pacienti prodělali předchozí artroskopickou operaci postiženého kolenního kloubu (5x ošetření defektu, 6x ošetření menisku). U jednoho pacienta byl při odběru chrupavky a u 4 pacientů současně s transplantací rekonstruován přední zkřížený vaz. U 6 pacientů bylo poranění kolenního kloubu komplexní (poranění chrupavky, vazů a menisků),

u 2 pacientů bylo poranění chrupavky izolované. 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 media 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 $1 - 2 \times 10^6 / \text{cm}^2$ 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 bezkreví, artrotomii volíme dle 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 očistíme 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 adhezni 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 (dle možnosti i déle) v rozsahu $0^\circ - 40^\circ$ flexe (rozsah zvýšíme na $0^\circ - 60^\circ$ 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. 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 měsíců po operaci. Rehabilitační program je modifikován dle lokalizace a velikosti defektu, dalších přidružených operací a dle 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 dle 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 dle 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 dle 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 makroskopický 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 bioptické vzorky k histologickému, histochemickému a imunohistochemickému vyšetření. K artroskopické biopsii jsme použili speciální jehlu k odběru kostní dřeně 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 dle 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 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.

3. 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 dle 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 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 dle 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 intensity 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. Dle 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 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 pooperační

nálezů při transplantaci a nálezů 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 (téměř normální) byla naměřena hodnota tuhosti novotvořené tkáně 82% a 90% (tuhost zdravé chrupavky 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 alcianovou modří a safraninem. Nově vytvořená chrupavková tkáň byla místo od místa různě buněčná a sestávala 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 diferenciaci jaké jsou známy v kloubní chrupavce. V povrchových vrstvách převažovaly menší elementy spíše vřetenitého tvaru orientované paralelně s povrchem. V dolní polovině vrstvy chrupavky naproti tomu převládaly objemnější chondrocyty charakteru 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.

4. 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. 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 dle Lysholma došlo u izolovaných defektů na kondylech femuru k zlepšení skóre z 43,5 bodu

před operací na 84,7 po operaci, při současném ošetření defektu na kondylech femuru a rekonstrukci předního zkříženého vazy 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 dle 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 dle Lysholma z 51 bodů před operací na 75 bodů po operaci. Při hodnocení pacientů s izolovaným ohraničeným defektem chrupavky došlo k zlepšení z 57 bodů před operací na 94 po operaci. Ve studii však nejsou uvedeny artroskopické a histologické nálezy. Největší soubor dat analyzujících užití 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 sledování 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 vzhled novotvořené chrupavky jako normální nebo téměř normální u 6 z 8 pacientů tj. u 75%, průměrné vizuální skóre všech pacientů bylo 9,4 bodu. Ve studii z roku 2000 uvádí Peterson makroskopické hodnocení novotvořené tkáně dle 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 vazy 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 přehojní 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 měkčí 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 prokázala, že implantace kultury chondrocytů 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 (7x smíšená chrupavka, 1x hyalinní chrupavce podobná). Po necelém roce vznikla dobře ke kosti fixovaná 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 nález 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 cytoplasmě 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 cytoplasmě 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 během přibližně 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. 8 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 převládající části tkáně (> 50%). Vazivové oblasti obsahovaly kolagen typ I.

V multicentrické studii italské skupiny byla odebrána biopsie u 22 pacientů v průměru 15,2 (10-30) měsíce po ošetření defektu Hyalografem 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 nálezn 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 vyžívání 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 usoudil, 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 Hyalografem 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 muticentrické studii byla v souvislosti s použitím Hyalografu C zaznamenána komplikace pouze u 4 pacientů, 3 pacienti udávali pooperačně mírnou teplotu, u jednoho z nich byla spojena se synovialitidou, který 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 Hyalografu 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 způsobených větší invazivitou operace a použitím periostálního štěpu.

5. Závěr

U všech pacientů došlo k funkčnímu zlepšení. Implantace chondrocytů na nosiči z esteru kyseliny hyaluronové (Hyalograft C) vede po necelém roce k vytvoření dobře ke kosti a okolí fixované smíšené chrupavky. V jednom případě jsme zaznamenali zralou chrupavku hyalinního typu. Doba jednoho roku je příliš krátká, aby mohlo dojít ke kompletní přestavbě nově vznikající nezralé chrupavkové tkáně v chrupavku hyalinní.

Na základě našich výsledků usuzujeme, že použití Hyalografu 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). Poměrně rychlá a snadná aplikace Hyalografu 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.

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

Tab 1.

ICRS vizuální skóre reparace chrupavky

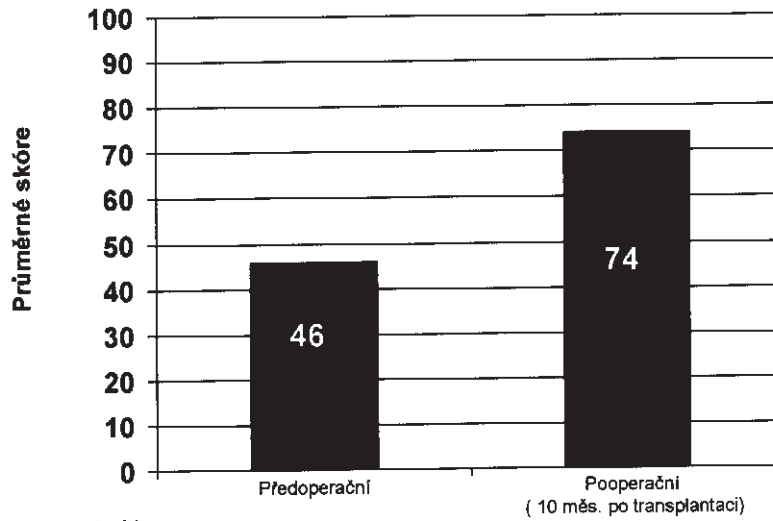
Kritéria	Hodnocení	body
I Výplň defektu nově tvořenou tkání	V úrovni okolní chrupavky	4
	75% hloubky defektu	3
	50%	2
	25%	1
	0%	0
II Integrace s okolní chrupavkou	Kompletní integrace se sousední chrupavkou	4
	Demarkace okraje < 1mm	3
	$\frac{3}{4}$ štěpu integrovány, $\frac{1}{4}$ s demarkační linií > 1mm	2
	$\frac{1}{2}$ štěpu integrována, $\frac{1}{2}$ s demarkační linií > 1mm	1
	Integrace štěpu do $\frac{1}{4}$ 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.

Tab 2.

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

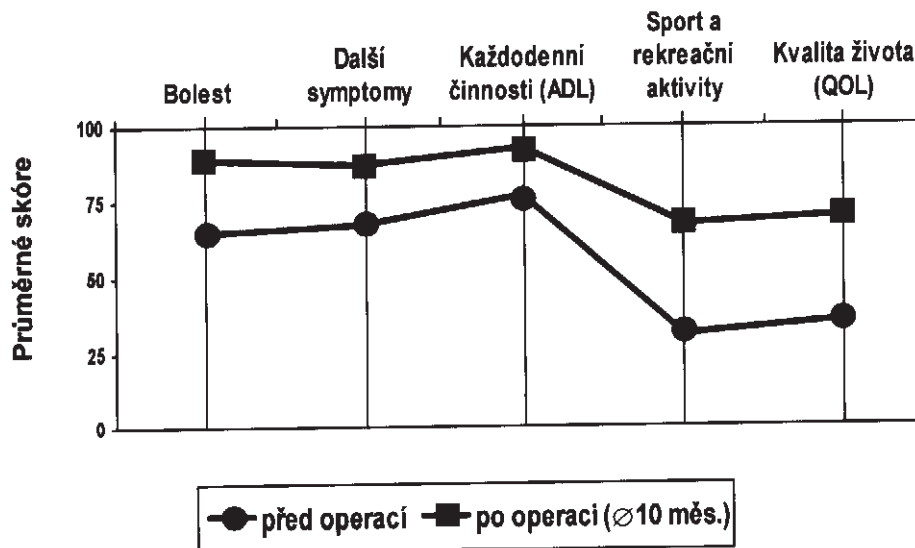
Tab. 3

IKDC subjektivní hodnocení



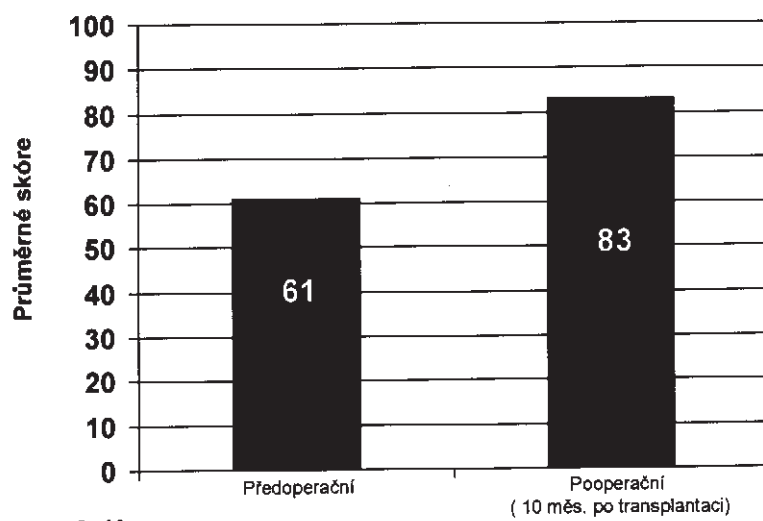
Graf 1.

KOOS skóre



Graf 2.

Lysholmovo skóre



Graf 3.



Obr. 1. Hyalograft C - úprava štěpu



Obr. 2. Jehla k artroskopické biopsii



Obr. 3a.



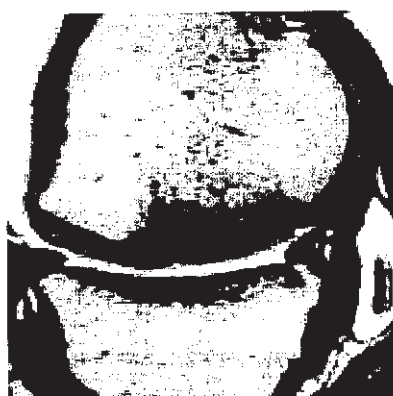
Obr. 3b.



Obr. 3c.

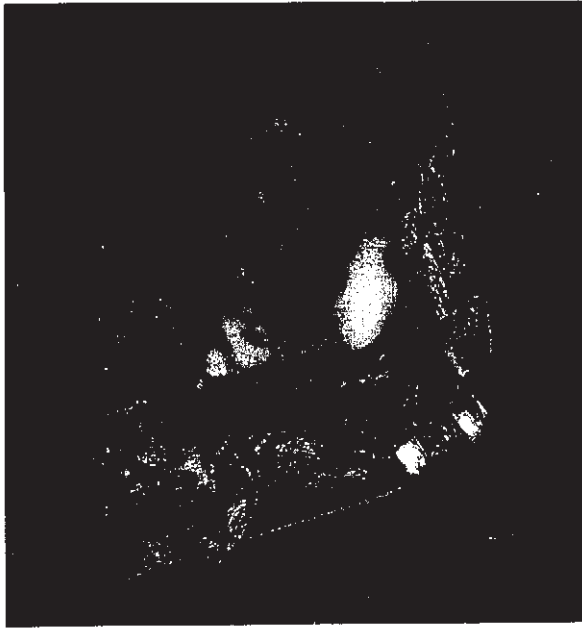
MR vyšetření (FSE PD sag) 3, 6 a 12 měsíců po transplantaci

- 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 normalizace 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.



Obr. 4.

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



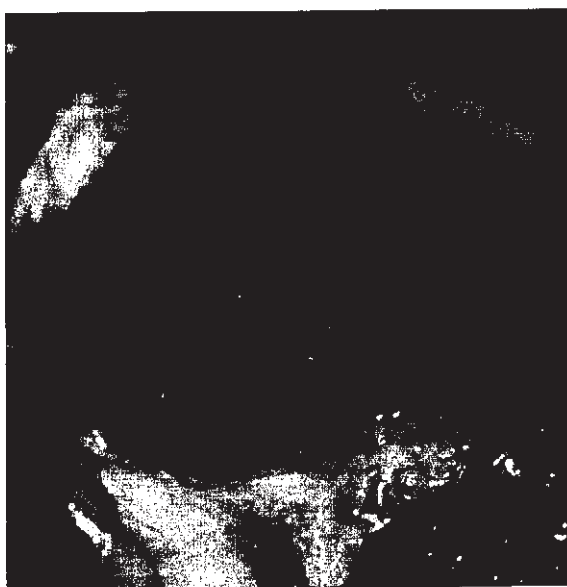
Obr. 5a. Poúrazový defekt laterálního kondylu femuru velikosti 18x20 mm, hloubka 7 mm



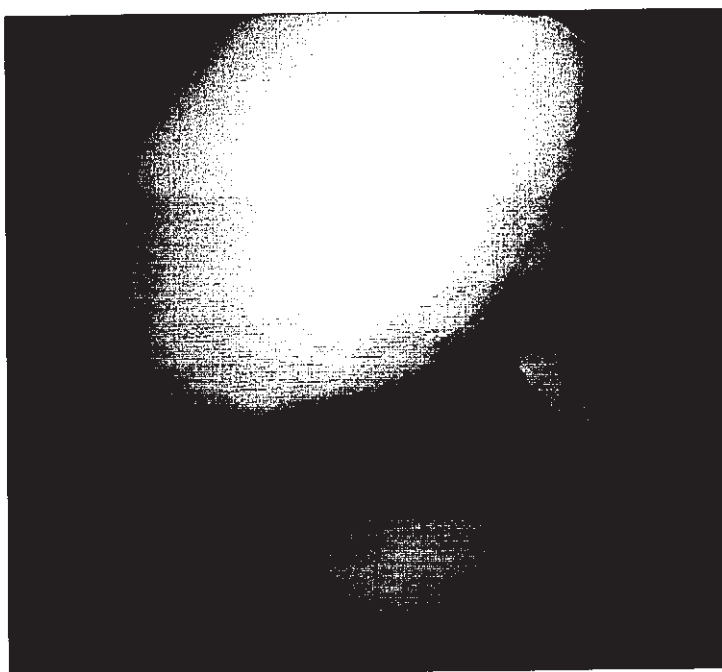
Obr. 5b. Defekt vyplněný štěpem (Hyalograft C) ve 2 vrstvách, štěp je po obvodu



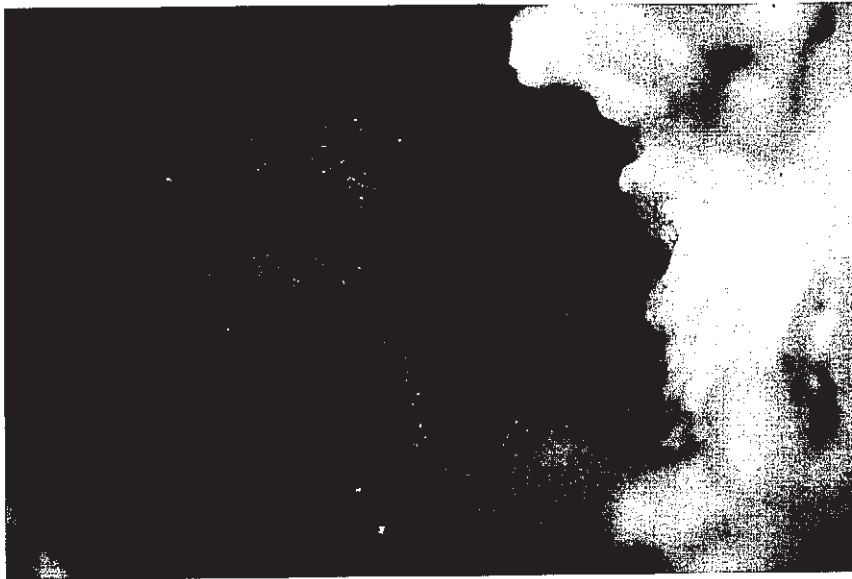
Obr. 5c. Nález při kontrolní artroskopii 9,5 měsíce po transplantaci



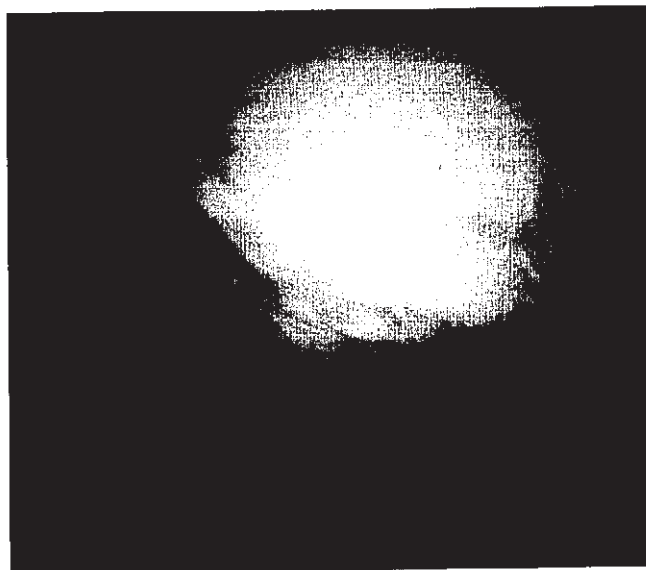
Obr. 6a. Poúrazový defekt mediálního kondylu femuru velikosti 15x20 mm



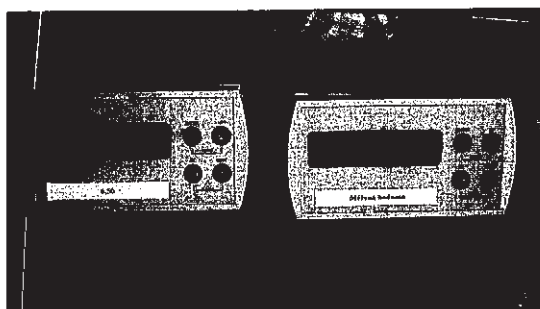
Obr. 6b. Nález při kontrolní artroskopii 9 měsíců po transplantaci



Obr. 7a. Ošetřený defekt vyplněný štěpem (Hyalograft C)



Obr. 7b. Stav po odstranění hypertrofické chrupavky (shaving).
Zadní část štěpu je rozvlákněná s trhlinami



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



Histologické nálezy



Obr. 9a Přehledný snímek zachycující nově vytvořenou chrupavku hyalinního typu nasedající na kostní tkáň. Ve spodních vrstvách 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)



Obr. 9b Identická oblast v detailu (zvětšeno 280x)

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., Tallheden, T., Lindhal, 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., Giardino, 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., Udvarhelyi, I., Szigeti, I., 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., Engebretsen, 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., Brochetta, 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.: Matrixassozierte 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., Čížmář, 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

Za provedení a zhodnocení histologických nálezů děkuji Prof. MUDr. C. Povýšilovi, DrSc
Ústav patologie 1. LF UK a VFN a Katedra patologické anatomie IPVZ, Praha

Za provedení a zhodnocení MR vyšetření děkuji Doc. MUDr. J. Šprindrichovi, CSc.
Radiodiagnostická klinika 3. LF UK a FNKV, Praha

Treatment of Deep Chondral Defects in the Knee with Autologous Chondrocytes Fixed on a Scaffold Form of Hyaluronic Acid Esters (Hyalograft C)

Abstract

Aim of the study

In the past few years we have seen further progress in the treatment of chondral defects by transplanting autologous chondrocytes. Different biomaterials are used as temporary carriers for fixation and an even distribution of chondrocytes in the defects. Since 2003 we have implemented a clinical trial for the treatment of deep chondral defects in the knee by transplanting autologous chondrocytes fixed in a scaffold from hyaluronic acid esters (Hyalograft C). This material has been evaluated in a prospective study.

Material

We evaluated results in 8 transplanted patients (7 males and 1 female, age of 31 years) with a minimal follow up of 9 months after surgery. Defects of an average size of 3,9 cm² were localized on femoral condyles.

Method

We evaluated the functional outcomes (IKDC, KOOS, Lysholm score) and performed MRI before and 3, 6 and 12 months after surgery. The newly formed cartilage was controlled visually (ICRS visual score) during a second-look arthroscopy at 9 to 12 months after transplantation. In 3 patients, we compared the stiffness of the repair tissue at the site of the original defect with the surrounding cartilage using a specially developed electromechanical indentation probe. Specimens for histological, histochemical and immunohistochemical studies were harvested from the site of transplanted chondrocytes.

Results

Improvement of the knee joint was confirmed in all patients at an average time of 10 months following surgery. The average IKDC subjective score improved from 46 points before

surgery to 74 points after surgery. Using the KOOS scoring system, we observed a decrease in pain and improvement of function. When evaluating life quality, the average score improved from 35 points before surgery to 70 points at control. The preoperative Lysholm score was 61 points compared to 83 points postoperatively. We found a good correlation of MRI and arthroscopic findings. During second-look arthroscopy, the newly formed cartilage was evaluated as normal in 6 and as abnormal in 2 cases. The average ICRS visual score was 9.4 points. No graft failure was detected. The newly-formed tissue had a histological picture of a mixed cartilage in 7 patients and a hyaline-like cartilage in 1 patient.

Discussion

Using the macroscopic evaluation system of a newly-formed cartilage (ICRS visual score) our results are superior to those published by Bartlett (11 patients evaluated 1 year after transplantation of chondrocytes on a carrier from animal collagen), but inferior to the Italian multicentric study (55 patients evaluated in an average of 14 months after transplantation using Hyalograft C as a carrier).

The implantation of chondrocytes in a Hyalograft C carrier leads to the formation of a mixed cartilage with good (firm) fixation to the bone within less than a year. A mature hyaline cartilage could be proved in only one case. A one-year period seems too short for complete remodelling of a newly formed immature cartilage tissue into a hyaline cartilage. Further studies show that even after a year further maturation and remodelling of the newly-formed cartilage is occurring.

Conclusion

Functional improvement of the knee could be followed in all patients. Hyalograft C leads to formation of new cartilage at the defect site. A well-fixed tissue of mainly mixed (fibrohyaline) type formed in less than a year. The scaffold resorbed without problems. A one year period seems too short for complete remodelling of a newly formed immature cartilage tissue into hyaline cartilage. We conclude that Hyalograft C cartilage transplantation is a safe and efficient method for treatment of deep chondral defects in the knee. It is especially useful for patients with initial failures in cartilage defect treatment. A quick and easy application of Hyalograft C into the defect shortens the time of surgery, which may be beneficial especially in cases of complex surgeries (ligament repairs, osteotomies, etc.). Final evaluation of this method will be possible only with long-term follow up.

III. Dokumentace

MR vyšetření

Soubor je tvořen 11 pacienty, u kterých bylo provedeno dle definovaného protokolu celkem 22 MRI vyšetření na MR pracovišti Radiologické kliniky FNKV, Praha.

Při zpracování bylo dále přihlédnuto ke 3 předoperačním vyšetřením, provedeným na jiných MR pracovištích.

Technika

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 aplikován tento protokol:

- SE T1 cor
- FSE PD/T2 sag
- SE T1 FS sag
- GRE T1 ax

Protokol byl zvolen s přihlédnutím k závěrům práce Golda (1).

Data byla uložena na pevný disk a k postprocesingovému zpracování převedena ve formátu DICOM na CD nosič. Obrazová dokumentace byla pořízena na laserové tiskárně.

U pacientů po operaci bylo podáno 10 ml Magnevistu i.v. a po 90 minutách doplněny sekvence:

- SE T1 FatSat sag a cor
- IRFSE PD/T2 sag

Data byla uložena na pevný disk a k postprocesingovému zpracování převedena ve formátu DICOM na CD nosič. Obrazová dokumentace byla pořízena na laserové tiskárně, v roce 2005 na zařízení DryStar firmy Agfa.

Plán vyšetření

U každého pacienta bylo užito předoperační nativní MR vyšetření k zhodnocení přítomného defektu chrupavky, jeho lokalizace a k indikační terapeutické rozvaze. U tří pacientů k tomu posloužilo vyšetření z jiného pracoviště, dobře dokumentované. Toto vstupní vyšetření sloužilo též k odhalení případné další patologie – poškození menisků, léze zkřížených či postranních vazů.

MR kontroly následovaly po 6 měsících od operace, kdy byly pořízeny jak nativní skeny dle výše uvedeného protokolu tak postkontrastní skeny 90 minut po i.v. aplikaci 10 ml Magnevistu (Schering).

K dnešnímu dni pouze jeden pacient absolvoval 3 pooperační kontroly (sledování do 1,5 roku od operace), tři pacienti mají 2 pooperační kontroly (do 1 roku po operaci). U ostatních je k dispozici pouze 1 pooperační kontrola.

Statistické zpracování souboru s ohledem na nízký počet pacientů provedeno nebylo.

Operovaní pacienti však docházejí dále k MR kontrolám dle uvedeného schématu tak, aby celková doba sledování po operačním výkonu byla minimálně 2 roky.

Vyhodnocení

Morfologické vyhodnocení je provedeno s přihlédnutím k obrazové dokumentaci i k datům na CD nosiči. Metrika zpracována v programu e-film.

Předoperačně byly zhodnoceny (2): velikost ložiska, integrita povrchu chrupavky, síla chrupavky v ložisku v porovnání se zdravou chrupavkou, ohraničení, případně oddělení

ložiska, integrita povrchu subchondrální kosti, přítomnost kostního edému nad místem léze chrupavky.

Integritu povrchu chrupavky a sílu chrupavčité vrstvy zhodnotíme nejlépe ze sagitálního řezu FSE PD sekvence – obr. 1

Rozměry ložiska, které je většinou oválné, zjistíme odečtem ze sagitálních a koronárních vrstev – obr. 2.



Obr. 1: Zobrazení FSE PD v sagitální rovině. Velmi dobré kontrastní rozlišení chrupavky oproti kloubní dutině i subchondrální kosti. Optimální zejména při vyhodnocení čistě chrupavčitých lézí. Měření tloušťky chrupavčitého povlaku.

Obr. 2: Zobrazení SE T1 v koronární rovině. Nutný doplněk při metrickém vyhodnocení velikosti defektu a při hlubších lézích s defektem či edémem subchondrálně. Odlišení povrchu chrupavky proti kloubní dutině není optimální, je však dobře patrný i malý kostní edém nad místem chrupavčité léze. T1 sekvence jsou též nezbytné pro měření T1Gd indexů.

Pro výpočet objemu chrupavky potřebné k výplni ložiska je třeba provést segmentaci chrupavčité vrstvy tak, aby do objemu nebyla započtena subchondrální vrstva u hlubších ložisek – obr. 3.



Obr. 3. Segmentace vrstvy chrupavky u hlubší subchondrální léze.

Při vlastním výpočtu nejprve vyjádříme plochu ložiska – u kruhového ložiska tedy ze vzorce $P = \pi \cdot r^2$, u eliptického ložiska $P = \pi \cdot a \cdot b$ objem chrupavky V je pak roven $P \cdot d$, kde d = tloušťka chrupavčité vrstvy.

Při pooperačních kontrolách hodnotíme sílu chrupavky v ložisku, výplň ložiska, integraci novotvořené chrupavky s okolní chrupavkou, integraci k subchondrální kosti a event. přítomnost kostního edému.

Histochemické zhodnocení (obsah proteoglykanů v chrupavce) se opírá o postprocessingové zhodnocení dat s kalkulací T1Gd relaxačních časů v segmentované chrupavce ze sagitálních postkontrastních skenů metodou dGEMRIC (3). Takto je hodnocena regenerovaná chrupavka v ložisku, na jeho okraji a 2 cm od okraje ložiska.

Dle literárních pramenů (4) nastává normalizace obsahu proteoglykanů v regenerované chrupavce do druhého roku po operaci. V naší studii plánujeme proto vyhodnocení tohoto parametru až na kontrolách za dva roky po operaci. Současná měření v kratším odstupu ukazují vesměs na malé snížení T1Gd indexu.

MR nálezy jednotlivých pacientů:

1. Pacient H.M., nar. 1977

Předoperační vyšetření chybí.

Transplantace autologních chondrocytů do defektu na laterálním kondylu femuru vlevo, operace dne 28.11.2003.

1. kontrola 27.2.04:

Ložisko je dobře demarkované, 18x12mm, exkavované do subchondrální kosti o hloubce 9mm. Síla zdravé chrupavky 4mm, povrch výplně lehce zvlněn, v úrovni okolní chrupavky.



Obr. 4. FSE PG sag



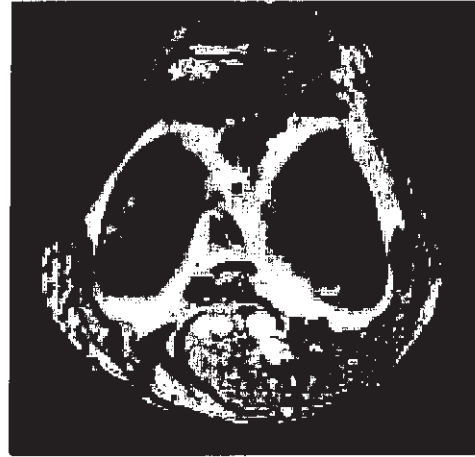
Obr 5. GRE ax

2. kontrola 28.6.04:

Ložisko je jen neostře demarkované, normalizace signálu výplně s okrsky nižšího signálu, ústup subchondrálního edému, povrch nerovný.



Obr. 6. FSE PD sag



Obr 7. GRE ax

3. kontrola 25.1.05:

Spodina defektu je vyplněna, obnovuje se kontura subchondrální kosti, která je mírně konvexní.

Normalizace signálu chrupavky, její povrch spíše lehce prominuje nad nivó okolní chrupavky.



Obr 8 FSE PD sag



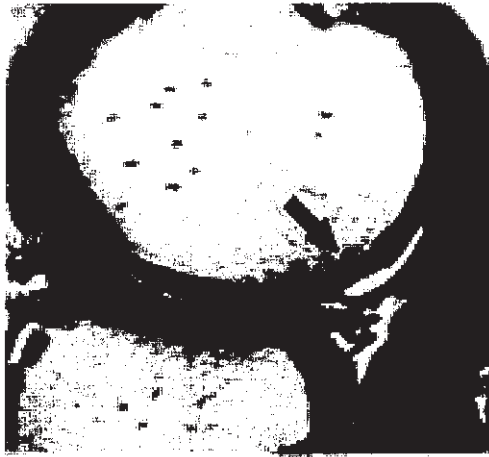
Obr 9 GRE ax

2. Pacient Z.D., nar. 1978

Předoperační vyšetření 14.12.2003:

Plochý, čistě chondrální defekt velikosti 16 x 18 mm na konvexitě laterálního kondylu pravého femuru, zasahující miskovitě téměř k subchondrální kosti, bez známek kostního edému.

Stav po plastice předního zkříženého vazů, odtržení zadního rohu laterálního menisku.



Obr 10 FSE PD sag

Transplantace autologních chondrocytů do defektu na konvexitě mediálního kondylu femoru vpravo, operace 30.1.2004.

Kontrola 21.5.2004:

Ložisko vyplněno lehce nehomogenní izosignální masou chrupavky, povrch mírně prominuje nad úroveň sousední chrupavky. Lamina povrchní kosti lehce nerovná, úzký lem kostního edému subchondrálně.



Obr 11, SE T1 sag

3. Pacientka J.A., nar. 1972

Předoperační vyšetření 22.5.2004:

Plochý oválný defekt chrupavky 15 x 15 mm na konvexitě mediálního kondylu pravého femuru. Signál v defektu nehomogenně zvýšen, defekt zasahuje k subchondrální kosti, povrchní lamina lehce nerovná, naznačen malý okrsek kostního edému nad ložiskem.

Přední zkřížený vaz je rozvlákněný.



Obr 12. SE T1 sag



Obr 13. SE T2 sag

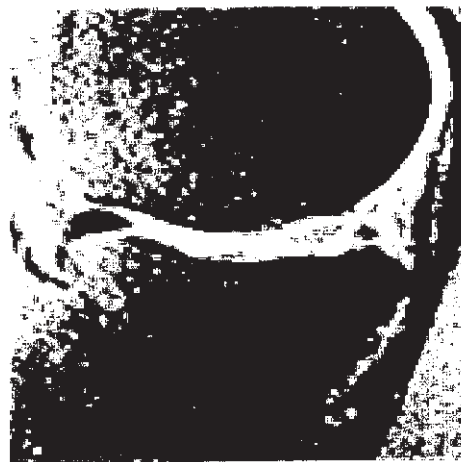
Transplantace autologních chondrocytů do ložiska na mediálním kondylu femuru, operace dne 14.7.2004.

Kontrola dne 14.1.2005:

Ložisko vyplněno jen ve spodině, kontura chrupavky pod nivó, lamina nerovná, kostní edém nad ložiskem ustoupil. Stav po plastice předního zkříženého vazů.



Obr 14. FSE PD sag



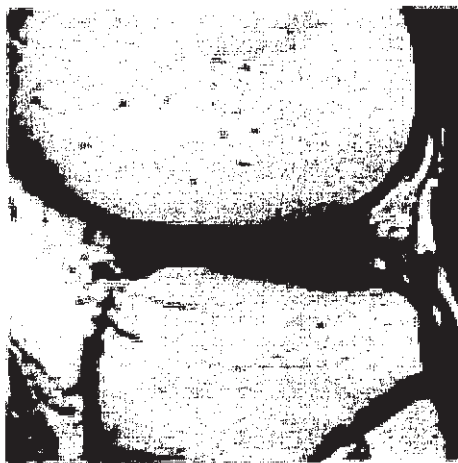
Obr 15 IR FSE PD sag

K další kontrole se pacientka zatím nedostavila.

4. Pacient K.V., nar. 1965

Předoperační vyšetření 29.5.2004:

Plochý defekt chrupavky na konvexitě laterálního kondylu pravého femuru, oválný, velikosti 16 x 12 mm, lamina kosti neporušena, bez subchondrálního edému. Nehomogenita signálu chrupavky na mediální ploše pately – zřejmě chondromalacie.

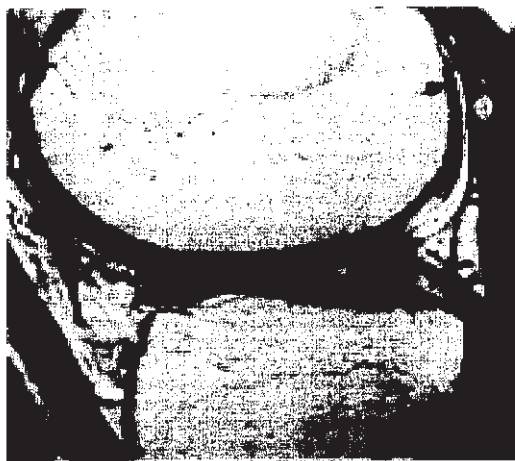


Obr. 16 FSE PD sag

Transplantace autologních chondrocytů do defektu chrupavky na konvexitě laterálního kondylu femuru, operace 14.7.2004.

Kontrola 4.11.2004:

Ložisko je ostře ohraničeno, povrch výplně hladký, v nivó, signálová intenzita je homogenně zvýšena. Lamina kosti hladká, subchondrálně bez edému.



Obr 17. FSE PD sag

2. kontrola 28.2.2005:

Chrupavka v defektu obnovena v plné síle, izosignální s okolní chrupavkou, povrch hladký. Lamina subchondrální kosti souvislá, bez subchondrálního edému.



Obr. 18. FSE PD sag

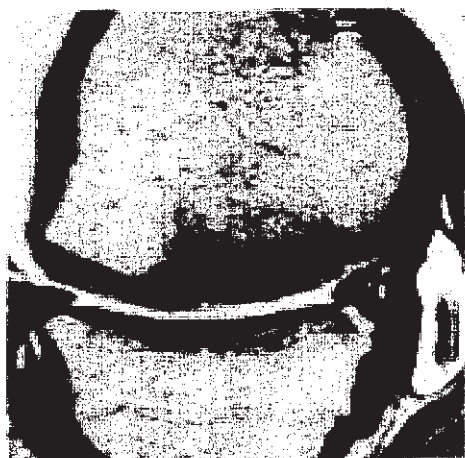
5. Pacient K.P., nar. 1968

Předoperační vyšetření chybí.

Transplantace autologních chondrocytů do defektu na konvexitě mediálního kondylu femuru dne 27.2.2004. Plastika předního zkříženého vazů a subtotální mediální menisektomie.

Kontrola dne 18.6.2004:

Velký oválný defekt chrupavky na konvexitě mediálního kondylu femuru, velikosti 2,5 x 2 cm, povrchní lamina kosti narušena, defekt zasahuje laločnatě do hloubky 2 – 3 mm subchondrální kosti. Výplň nerovná, její signál nehomogenní, o tloušťce do 2 mm při tloušťce okolní chrupavky 4 mm. Patrna plastika předního zkříženého vazů s artefakty kolem kovového šroubu ve femuru, prakticky totální mediální menisektomie, výrazné zkrácení i laterálního menisku.



Obr. 19 FSE PD sag



Obr. 20 SE T1 FS cor

K další MR kontrole se pacient dosud nedostavil.

6. Pacient V.Z., nar. 1971

Předoperační vyšetření dne 30.7.2004:

Oválný defekt chrupavky o velikosti ložiska 18 x 16 mm na konvexitě mediálního kondylu femuru. Povrch nerovný, chrupavka nerovnoměrně ztenčena místy až k subchondrální kosti, lamina interna porušena, nad ložiskem subchondrálně lokalizovaný kostní edém.

Stav po subtotální zevní meniskektomii, stav po ruptuře předního zkříženého vazy.



Obr. 21. FSE PD sag.



Obr. 22. SE T1 cor.

Transplantace autologních chondrocytů, plastika předního zkříženého vazy (lig. patellae), operace dne 12.11.2004.

1. kontrola dne 22.3.2005:

Nehomogenně hyposignální výplň ložiska v nivó, zasahuje i mělce subchondrálně, lamina kosti nepravidelná, ztenčená. Ústup kostního edému.



Obr. 23. FSE PD sag



Obr. 24. SE T1 cor



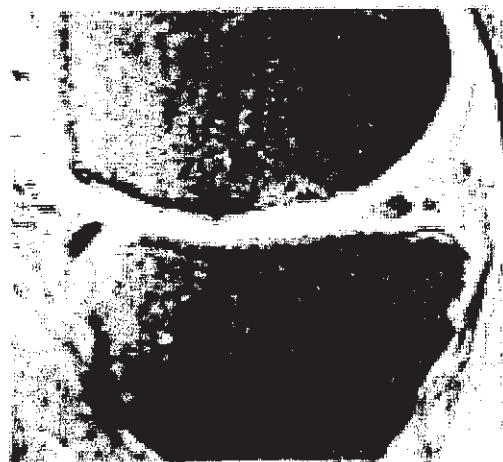
Obr. 25. SE T2 FS sag

2. kontrola 22.3.2005:

Defekt vyplněn chrupavkou s poněkud vyšším signálem, lehce prominující nad nivó. Kontura kortikalis vyrovnaná, ztenčena, ještě náznak subchondrální ulcerace.



Obr. 26. FSE PD sag

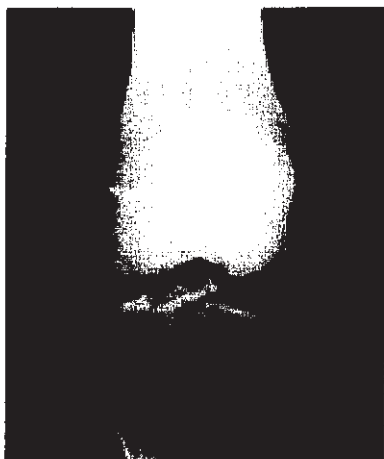


Obr. 27. SE T2 FS sag

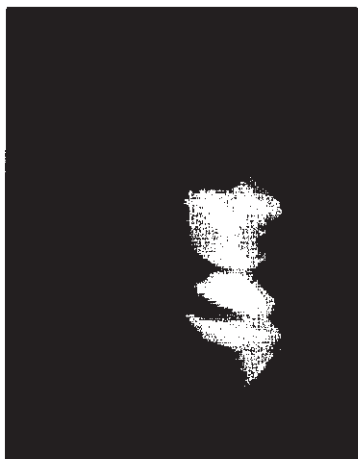
7. Pacient F.O., nar. 1976

Předoperační vyšetření dne 24.8.2004:

Odtržení horního úponu předního zkříženého vazy, stav po odstranění zadního rohu vnitřního menisku. Chondrální defekt v zadní části konvexity mediálního kondylu femuru, okrouhlý o průměru 16 mm, dosahující k lamina interna, která je ztenčena. Znamky lokalizovaného kostního edému nad ložiskem. Zmnožení kloubní tekutiny, distenze suprapatelárního recesu.



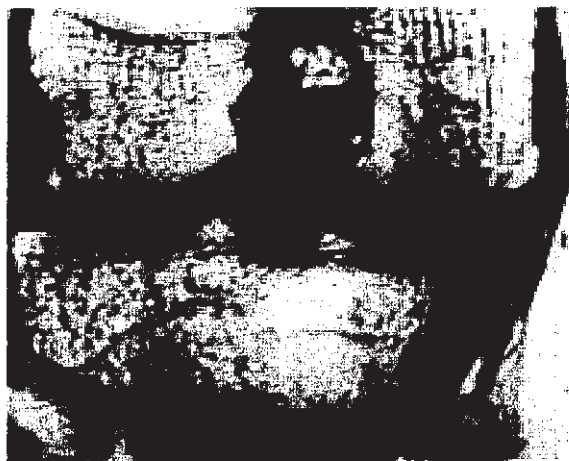
Obr. 28. Rtg ap



Obr. 29. Rtg lat



Obr. 30. FSE PD sag



Obr. 31. SE T1 cor

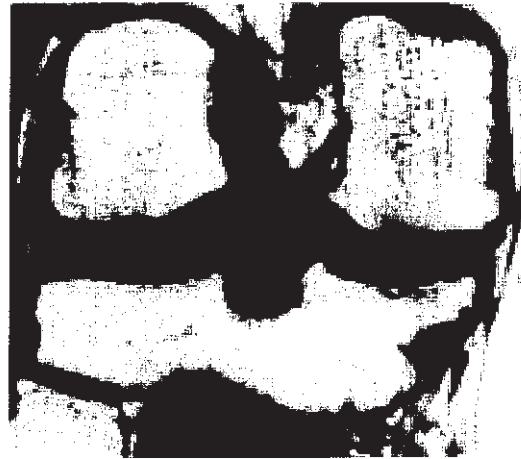
Transplantace autologních chondrocytů, plastika předního zkříženého vazů, operace dne 10.9.2004.

Kontrolní vyšetření dne 16.3.2005 :

Chrupavčitá výplň v plné výši v přední části defektu, dorsálně ještě menší okrajová miskovitá prohlubeň v místě transplantace. Při předním okraji výplně chrupavka lehce hypersignální. Kostní lamina souvislá, subchondrální edém vymizel.



Obr. 32. FSE PD sag



Obr. 33. SE T1 cor

8. Pacient K.I., nar. 1963

Předoperační vyšetření dne 29.10.2005:

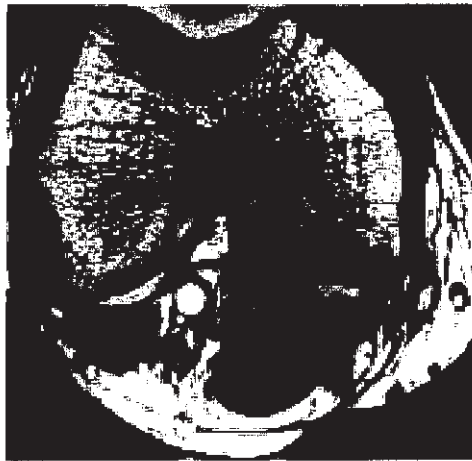
Mělký defekt chrupavky na konvexitě mediálního kondylu femuru, velikosti 10 x 8 mm s naznačenou nehomogenitou signálu. Kontura kortikalis neporušena, bez subchondrálního kostního edému. Horizontální ruptura zadního rohu mediálního menisku.



Obr. 34. FSE PD sag



Obr. 35. SE T1 cor



Obr. 36. GRE ax

Transplantace autologních chondrocytů do defektu na mediálním kondylu femuru, operace dne 12.11.2004.

Kontrolní vyšetření 21.3.2005:

Okrouhlý defekt mediálně na konvexitě vnitřního kondylu femuru vyplněn, signální intenzita chrupavky v lůžku poněkud vyšší, povrch v nivó. Na spodině přerušena linie kortikalis. Jen drobný kostní edém nad ložiskem.



Obr. 37. FSE PD sag



Obr. 38. SE T1 cor

9. Pacient K.J., nar. 1981

Předoperační vyšetření dne 9.5.2005:

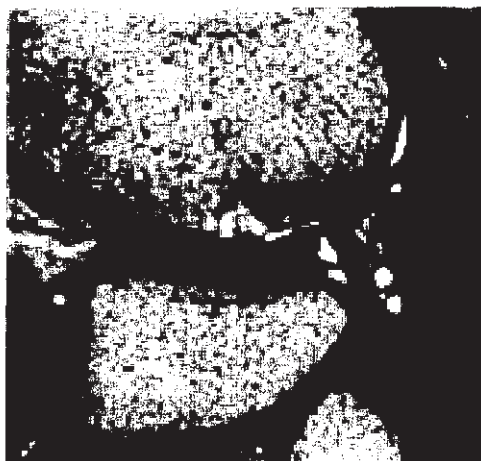
Dvě splývající ložiska na zevní ploše konvexity laterálního kondylu pravého femuru. Chrupavka v ložiscích má vyšší signál, je zeslabena, kortikalis je porušena v délce 1,5 cm, defekt zasahuje relativně hluboko (8 mm) do subchondrální kosti a nad každým ložiskem je centrálně se propagující kostní edém. V T2 váženém obraze zasahuje hypersignál kloubní tekutiny i do spodiny ložisek. Na axiálním skenu je nejlépe patrný rozsah nepravidelného defektu v zevní části kloubní plochy laterálního kondylu femuru.



Obr. 39. FSE PD sag



Obr. 40. SE T1 cor



Obr. 41. SE T2 sag



Obr. 42. GRE ax

Zatím bez pooperační kontroly.

10. Pacient B.D., nar. 1966

Předoperační vyšetření chybí.

Transplantace autologních chondrocytů do ložiska na mediálním kondylu femuru levého kolena, plastika předního zkříženého vazy, operace 10.9.2004.

Kontrolní vyšetření dne 27.5.2005:

Střední a zadní část chrupavčitého povlaku mediálního kondylu levého kolena rozrušena na ploše 25 x 20 mm. Signální intenzita vyšší, defekt dosahuje ve středu ke kosti, lamina kortikalís je ztenčená, nerovná, v přední části defektu ložisko zasahuje do subchondrální kosti. V T1 váženém obraze patrna plochá zóna kostního edému nad ložiskem. Stav po subtotální mediální menisektomii a po plastice předního zkříženého vazy.



Obr. 43. FSE PD sag



Obr. 44. SE T2 sag



Obr. 45. SE T1 cor

11. Pacient H.P., nar. 1989

Předoperační vyšetření 1.11.2004 (MR oddělení Zlín)

Defekt chrupavky v ložisku na mediální části konvexity laterálního kondylu levého femuru, velikosti 8 x 16 mm, v celé šíři chrupavky, linie kortikalis ztenčena, drobný lokalizovaný kostní edém subchondrálně nad ložiskem.



Obr. 46. SE T1 sag



Obr 47. IRFSE sag

Transplantace autologních chondrocytů do ložiska na laterálním kondylu femuru, operace 18.2.2005.

Kontrolní vyšetření dne 20.9.2005:

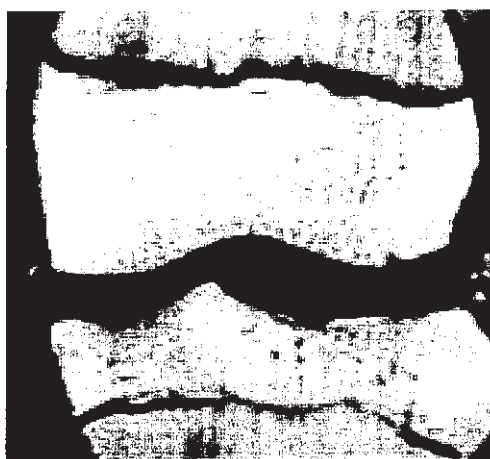
Defekt chrupavky na konvexitě laterálního kondylu femuru o rozměrech 12 x 10 mm, povrch chrupavky v ložisku nerovný, signální intenzita výplně nehomogenní, linie kortikalis porušena, část dislokována ve dvou fragmentech mělce subchondrálně (v PD vážené), v T1 vážených obrazech jen drobné schodovité porušení linie kortikalis.



Obr. 48. FSE PD sag



Obr. 49. SE T1 FS sag



Obr. 50. SE T1 cor

Závěr

Magnetická rezonance při použití popsané techniky zobrazení je velmi vhodnou neinvazivní a pacienta nezatěžující metodou ke zhodnocení morfologického výsledku operační techniky autologní transplantace chrupavky. Její zjištění koreluje v této studii s artroskopickými nálezy.

Pomocí MR vyšetření lze hodnotit stupeň reparace chrupavčitého defektu, dynamiku výplně ložiska, jeho povrch i normalizaci signálové intenzity chrupavky. Dobře je hodnotitelná integrita subchondrální kortikální kosti, případné hlubší defekty zasahující do kosti a jejich přestavbu. Cenným ukazatelem je i kostní edém, který nad dobře integrovanou chrupavkou vymizí.

Dle našich malých zkušeností dochází k vyhlazení povrchu chrupavčité výplně u mělkých defektů mezi 6 – 12 měsícem od operace, u hlubších subchondrálních defektů tento proces trvá déle. Mezi 12 a 18 měsícem jsme u některých pacientů pozorovali přerůst chrupavčité tkáně nad nivó okolní chrupavky. Normalizace obsahu proteoglykanů v chrupavce ložiska trvá déle, takže konečný výsledek transplantace autologních chondrocytů lze pomocí MR vyšetření zhodnotit až mezi 2 – 3 rokem od operace, dle hloubky a rozsahu původního defektu.

Za provedení a zhodnocení MR vyšetření děkuji Doc. MUDr. J. Šprindrichovi, CSc.
Radiodiagnostická klinika 3. LF UK a FNKV, Praha

Literatura

1. GOLD, G.E., McCAULEY, T.R., GRAY, M.L., DISLER, D.G.: What's new in cartilage? *Radiographics* 23: 1227-1242, 2003.
2. BRITTBERG, M., WINALSKI, C.S.: Evaluation of cartilage injuries and repair. *J.Bone Joint Surg.A, Suppl. 2*, 85: 58 – 69, 2003.
3. WILLIAMS, A., GILLIS, A., McKENZIE, Ch., PO, B., SHARMA, L., MICHELI, L., McKEON, B., BURSTEIN, D.: Glycosaminoglycan distribution in cartilage as determined by delayed Gadolinium-enhanced MRI of cartilage (dGEMRIC). *Am.J.Roentgenol.* 182: 167-172, 2004.
4. GILLIS, A., BASHIR, A., McKEON, B., SCHELLER, A., GRAY, M., BURSTEIN, D.: Magnetic resonance imaging of relative glykosaminoglykan distribution in patients with autologous chondrocyte transplants. *Invest. Radiol.* 36: 743-748, 2001.

Vývoj dotykového měřidla tuhosti chrupavky

Ve spolupráci s laboratoří biomechaniky člověka při ČVUT bylo vyvinuto a v praxi odzkoušeno měřící zařízení pro peroperační stanovení tuhosti kloubní chrupavky.

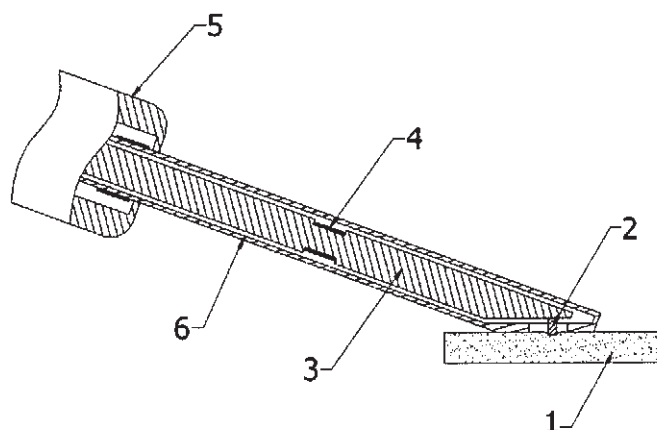
Princip zařízení spočívá ve zjišťování odolnosti kloubní chrupavky proti vniknutí měřící sondy do tkáně. Tato odolnost se dá považovat za tuhost chrupavky. Dotykové zařízení vyhodnocuje poměrný rozdíl mezi tuhostí zdravé a novotvořené chrupavky. Zařízení se skládá z dotykové sondy válcového tvaru s držadlem. Při zatlačení na kloubní chrupavku dojde k nepatrnému ohnutí přitlačného členu a měřícího ramena. Toto vychýlení je pak zaznamenáno pomocí tenzometrických snímačů a vyhodnoceno pomocí elektronické jednotky.

Technický popis zařízení

Při konstrukčním návrhu měřícího zařízení jsme vycházeli z konstrukce podobného zařízení. Bylo však nutné provést řadu konstrukčních a technologických úprav, aby výsledný produkt odpovídal našim konkrétním požadavkům – hodnocení tuhosti novotvořené a zdravé chrupavky při artroskopickém vyšetření. Měřící zařízení mělo řadu omezujících požadavků: naprostá bezpečnost, veškeré použité materiály musely být zcela zdravotně nezávadné, maximální průměr vnějšího pláště sondy měřícího zařízení pro artroskopicky použití musel být 8 mm, musela být zaručena odolnost proti vlhkosti a pro možnost sterilizace musela být sonda odolná proti teplotám do 90°C. Tyto vstupní podmínky, které nebylo možné změnit, byly pro konstrukci zařízení limitující.

Měřící zařízení funguje na vzájemném porovnání hodnot tuhosti zdravé a transplantované tkáně. Vnější plášť sondy (6) je přitlačována na měřenou tkáň konstantní silou 10 N. Spolu s ní je na tkáň přitlačována i vnitřní část sondy (3) na které je dotykový hrot (2). Odporem měřené tkáně proti vniknutí dotykového hrotu je vyvozena reakční síla, která ohýbá vnitřní část (3). Reakční síla je přímo úměrná tuhosti měřené tkáně. Principem zařízení je měření deformace vnitřní části (3) vlivem ohybového zatížení pomocí tenzometrů (4). Pro zajištění stejných měřících podmínek je nutné dodržet zatížení vnějšího pláště sondy konstantní silou 10 N. Z toho důvodu byly na vnější část umístěny tenzometry, které zjišťují velikost její deformace. Velikost této deformace je zkalibrována tak, aby její velikost odpovídala zatížení 10 N. Všechny tenzometry byly zapojeny do pólmostů ze kterých byly signály přeneseny do vážních jednotek. Nutnou podmínkou pro správnou funkci zařízení je nastavení ohybových deformací vnější i vnitřní části tak, aby na straně jedné nedošlo při

měření k jejich vzájemnému kontaktu a na straně druhé aby velikost ohybových deformací byla co největší.



Obrázek 1.: Schéma sondy měřicího zařízení. (1-měřená tkáň, 2-dotykový hrot, 3-vnitřní část, 4-tenzometry, 5-držadlo, 6-vnější plášť)

Pro návržení tvaru a funkčního uspořádání měřidla bylo použito analytické výpočtové optimalizace pomocí metody konečných prvků (MKP). Optimalizace byla nastavena tak, aby signál v místě umístění tenzometrů byl dostatečně silný, ale zároveň aby byla splněna podmínka stejného ohybu obou členů (vnější i vnitřní části). Byly definovány geometrické parametry (L_1 – šířka drážky, L_2 – vzdálenost drážky od hrotu, T – tloušťka vnitřní části), které byly optimalizovány pro několik podmínek:

1. napětí v žádné z částí nesmí být větší než 100 MPa
2. deformace ϵ musí být alespoň 300 μ
3. rozdíl posuvů deformovaných částí (vnější i vnitřní) nesmí být větší než 0,05 mm

Tato optimalizace byla provedena v programu ANSYS 8.1. Bylo provedeno vytvoření 3D geometrického modelu dotykového měřidla, v němž byla posléze vytvořena síť. Úloha byla řešena jako symetrická, statická a nelineární. Okrajové podmínky této úlohy byly voleny tak, že na jedné straně byl konec měřidla vetknutý, kdežto na volném konci byl zavedena síla, jejíž velikost byla pro vnější část 10 N a pro vnitřní část 3 N. Na takto definovanou úlohu byla aplikována optimalizační analýza, jejíž cílem bylo stanovení geometrického tvaru vnitřního členu měřidla. Výsledkem této optimalizace je tvar obou členů měřicího zařízení.

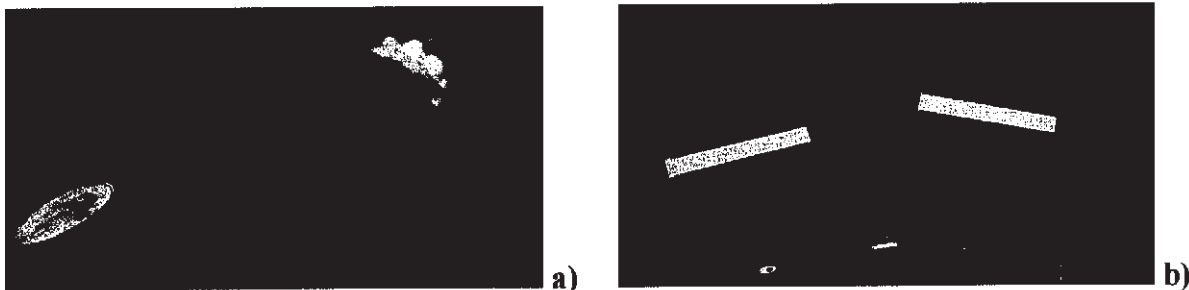
Z provedené analýzy je patrné, že obě součásti pevnostně vyhovují zatěžovacím podmínkám tak, jak byly definovány při zadání. Dále velikost signálu v měřicím místě je dostatečná při splnění konstrukční podmínky stejného ohybu obou částí snímače.

Praktické použití:

Měřicí zařízení funguje na principu vzájemném porovnání hodnot **tuhosti zdravé a novotvořené chrupavky**. Vnější plášť sondy (6) je přitlačována konstantní silou 10 N na měřenou tkáň. Spolu s ní je na tkáň přitlačována i vnitřní část (3) na které je dotykový hrot (2). Odpořem měřené tkáně proti vniknutí dotykového hrotu je vyvozena reakční síla, která ohýbá vnitřní část (3) – **to je naše měřená hodnota**. Velikost reakční síly je způsobena tuhostí měřené tkáně. Pro zajištění stejných měřicích podmínek je nutné dodržet zatížení vnějšího pláště sondy konstantní přitlačnou silou 10 N – **ta odpovídá hodnotě 6,5 na kontrolním displeji 6,5**.

Příklad vyhodnocení:

Na zdravé chrupavce je naměřena hodnota 80, to odpovídá 100%. Na nově vytvořené chrupavce je naměřena hodnota 40. Potom výsledek je ten, že tuhost nově vytvořené chrupavky odpovídá $\frac{40}{80} = 0,5 \Rightarrow$ **50%** chrupavky zdravé.



Obrázek 2.: a) detail dotykového měřidla, b) kompletní měřicí zařízení

Cílem celého projektu bylo navrhnout, vyrobit a vyzkoušet dotykové měřidlo, které by při artroskopické operaci bylo schopno měřit tuhost kloubní chrupavky. Toto zadání bylo úspěšně splněno a měřidlo bylo použito v praxi. Přesto vývoj tohoto zařízení stále pokračuje a to z důvodu několika nedostatků, které byly objeveny při použití v praxi. Je nutné zlepšit odolnost měřicí sondy zaváděné do kloubu na opakovanou sterilizaci. Dalším úkolem je stanovení přesného působíště síly, kterou je vnější část zařízení přitlačována k tkáni. Cílem bude určení stopy ohybového momentu, protože stávající konfigurace není schopna rozlišit zda je měřena deformace od výslednice nebo složky působící síly. Vylepšením bude změna

vyhodnocovací jednotky, tak aby byla co nejkompaktnější a umožňovala automatické odečítání hodnot.

Tým pracovníků podílejících se na vývoji přístroje pro hodnocení tuhosti chrupavky:

Ing. Radek Sedláček

Ing. Zdeněk Horák

Ing. Jana Rosenkrancová

Ing. Jan Řezníček, CSc.

Doc. Ing. Jiří Michalec, CSc.

České vysoké učení technické v Praze, Fakulta strojní - Ústav mechaniky

Laboratoř biomechaniky člověka

Literatura

Lyyra, T., Arokoski, J.P.A., Oksala, N., Vihkot, A., Hyttinen, M., Jurvelin, J.S., Kiviranta, I.:
Experimental validation of arthroscopic cartilage stiffness measurement using
enzymatically degraded cartilage samples. *Phys. Med. Biol.*, 44, 525-535, 1999.

Blevins, F.T., Steadman, J.R., Rodriga, J.J., et al.: Treatment of articular cartilage defects in
athletes: An analysis of functional outcome and lesion appearance. *Orthopedics*, 21, 761-
768, 1998.

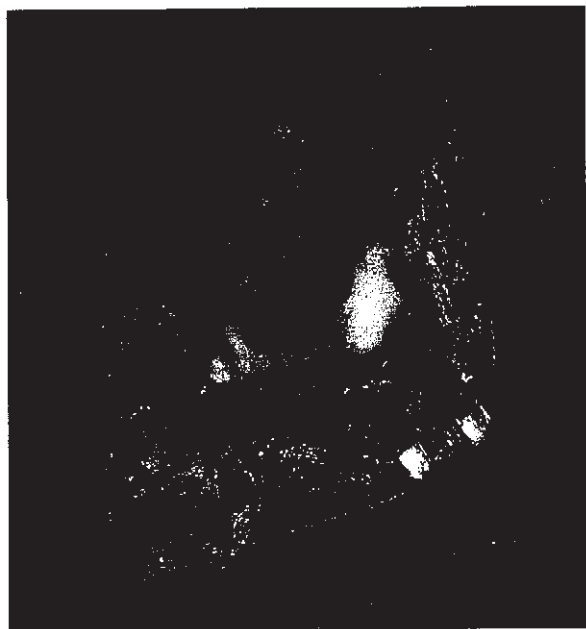
Lyyra, T., Jurvelin, J., Pitkänen, P., Väätäinen, U., Kiviranta, I.: Indentation instrument for
the measurement of cartilage stiffness under arthroscopic control. *Med. Eng. Phys.* 17,
395-399, 1995.

Lyyra, T., Niinimäki, M., Töyräs, J., et al.: Optimalization of the arthroscopic indentation
instrument for the measurement of thin cartilage stiffness. *Med. Eng. Phys.*, 44, 2511-
2524, 1999.

Peterson, L., Brittberg, M., Kiviranta, I., et al.: Analogous chondrocyte transplantation:
Biomechanics and long-term durability. *The American J. of Sports Medicine*, 30, 1-12,
2002.

Peroperační nálezy a nálezy při kontrolní artroskopii (obrazová dokumentace)

Pacient č. 1 (H.M.)



Obr. 1. Pouřazový defekt laterálního kondylu femuru velikosti 18x20 mm, hloubka 7 mm.



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

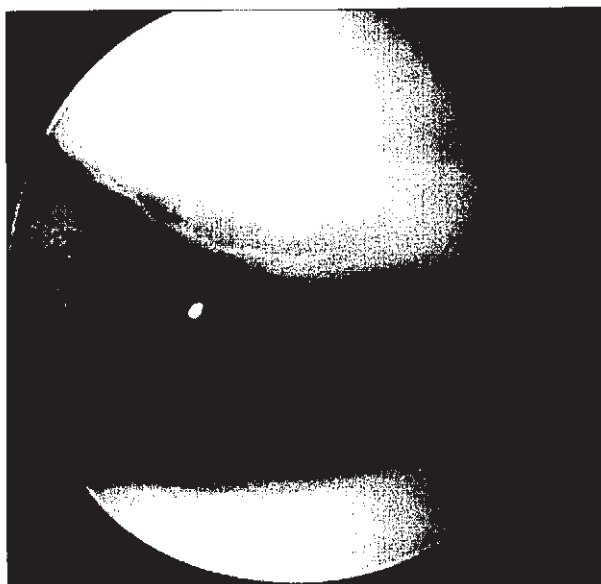


Obr. 3a. Nález při kontrolní artroskopii 9,5 měsíce po transplantaci.

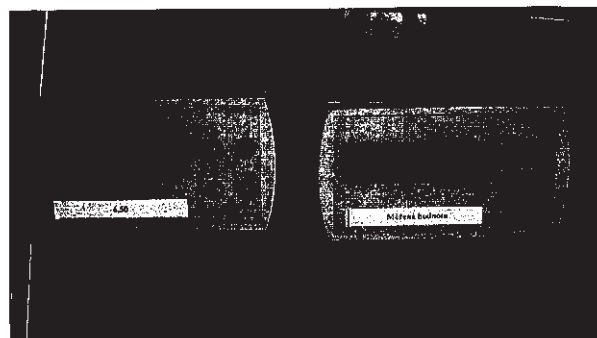


Obr. 3b. Nález při kontrolní artroskopii 9,5 měsíce po transplantaci.

Peroperační nálezy a nálezy při kontrolní artroskopii (obrazová dokumentace)



Obr. 4. Hodnocení tuhosti nově vytvořené a zdravé chrupavky při artroskopickém vyšetření pomocí dotykového měřidla.



Obr. 5. Pohled na displeje měřidla.



Obr. 6. Celkový pohled

Peroperační nálezy a nálezy při kontrolní artroskopii (obrazová dokumentace)

Pacient č. 2 (Z.D.)



Obr. 7. Poúrazový defekt mediálního kondylu femuru.



Obr. 8. Měření velikosti defektu pomocí šablony.



Obr. 9. Defekt vyplněný štěpem (Hyalograft C) v jedné vrstvě, štěp je po obvodu fixován fibrinovým lepidlem.

Peroperační nálezy a nálezy při kontrolní artroskopii (obrazová dokumentace)

Pacient č. 3 (K.V.)



Obr. 10. Defekt na laterálním kondylu femuru velikosti 20x5 mm.



Obr. 11. Defekt vyplněný štěpem (Hyalograft C)

Peroperační nálezy a nálezy při kontrolní artroskopii (obrazová dokumentace)

Pacient č. 4 (J.A.)



Obr. 12. Defekt na mediálním kondylu femuru velikosti 25x20 mm.



Obr. 13. Ošetřený defekt vyplněný štěpem (Hyalograft C)



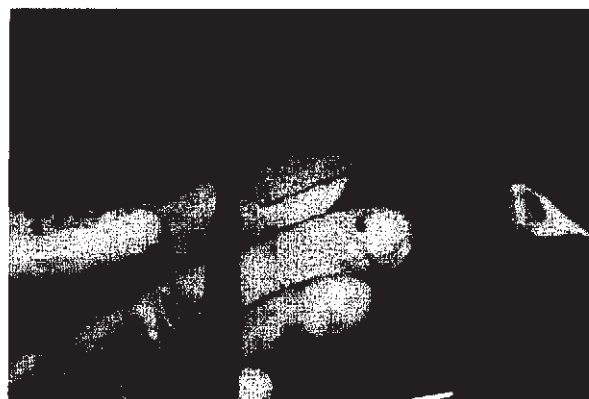
Obr. 14. Fixace štěpu fibrinovým lepidlem

Peroperační nálezy a nálezy při kontrolní artroskopii (obrazová dokumentace)

Pacient č. 5 (B.D.)



Obr. 15. Defekt mediálního kondylu femuru velikosti 25x20 mm.



Obr. 16. Úprava štěpu

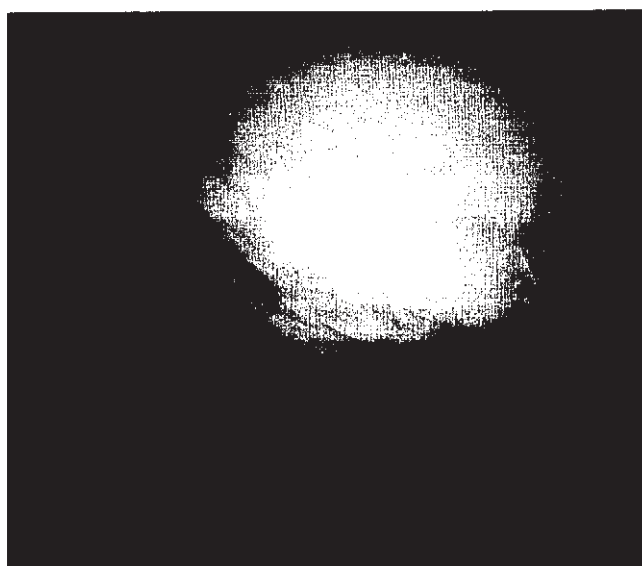


Obr. 17. Ošetřený defekt vyplněný štěpem (Hyalograft C)

Peroperační nálezy a nálezy při kontrolní artroskopii (obrazová dokumentace)



Obr. 18. Nález při kontrolní artroskopii 12 měsíců
po transplantaci.
Část štěpu je hypertrofická



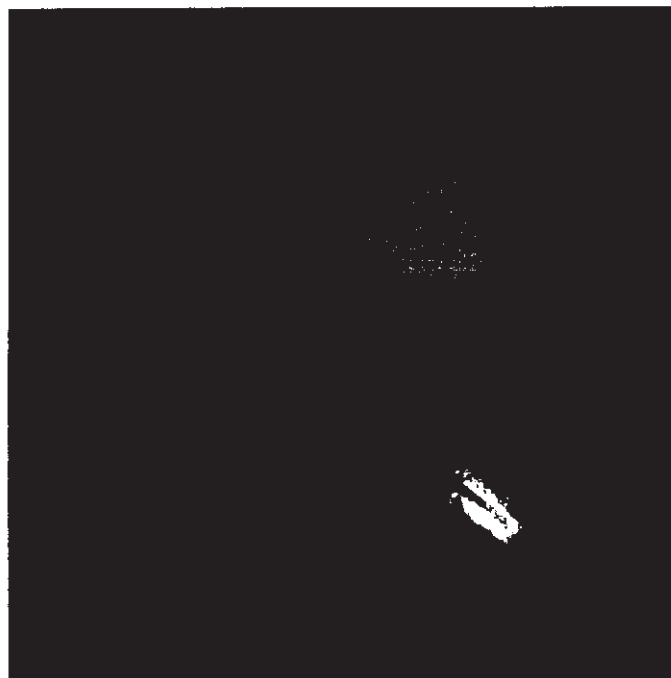
Obr. 19. Stav po odstranění hypertrofické chrupavky
(shaving). Zadní část štěpu je rozvlákněná
s trhlinami.

Peroperační nálezy a nálezy při kontrolní artroskopii (obrazová dokumentace)

Pacient č. 6 (V.Z.)



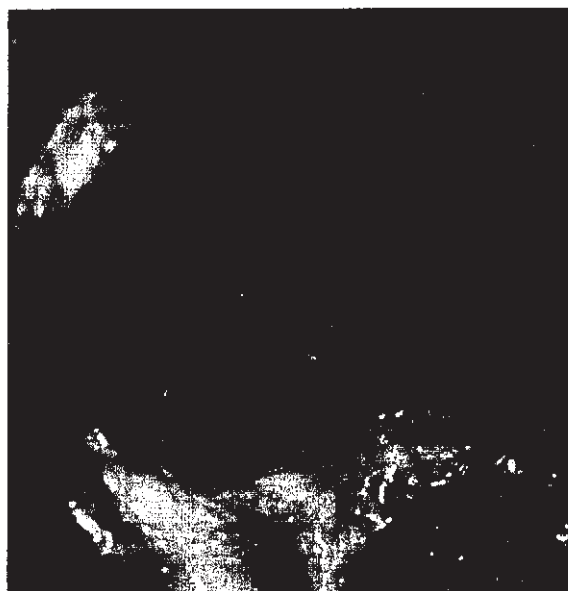
Obr. 20. Defekt mediálního kondylu femuru velikosti 15x20 mm vyplněný štěpem.



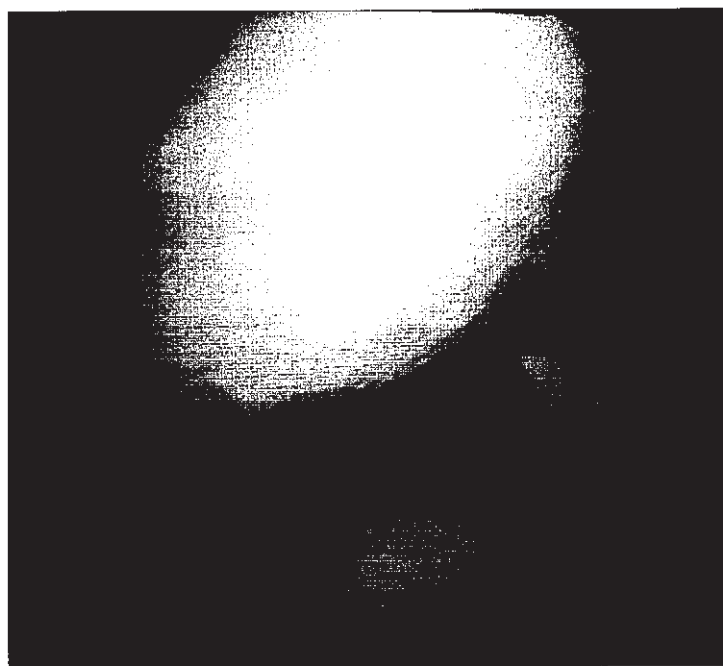
Obr. 21. Nález při kontrolní artroskopii 10 měsíců po transplantaci

Peroperační nálezy a nálezy při kontrolní artroskopii (obrazová dokumentace)

Pacient č. 7 (F.O.)



Obr. 22. Poúrazový defekt mediálního kondylu femuru velikosti 15x20 mm.



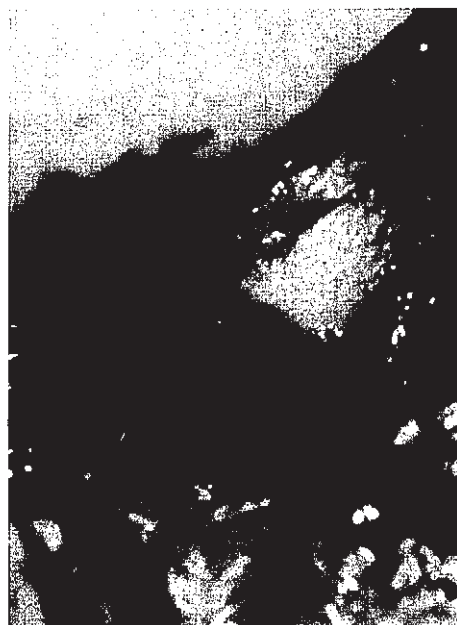
Obr. 23. Nález při kontrolní artroskopii 9 měsíců po transplantaci

Peroperační nálezy a nálezy při kontrolní artroskopii (obrazová dokumentace)

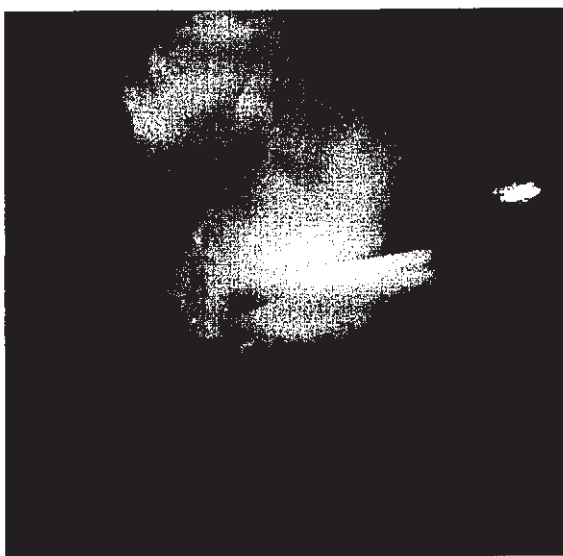
Pacient č. 8 (K.I.)



Obr. 24. Defekt mediálního kondylu femuru
po opakovaných úrazech velikosti
20x15 mm



Obr. 25. Defekt vyplněný štěpem.

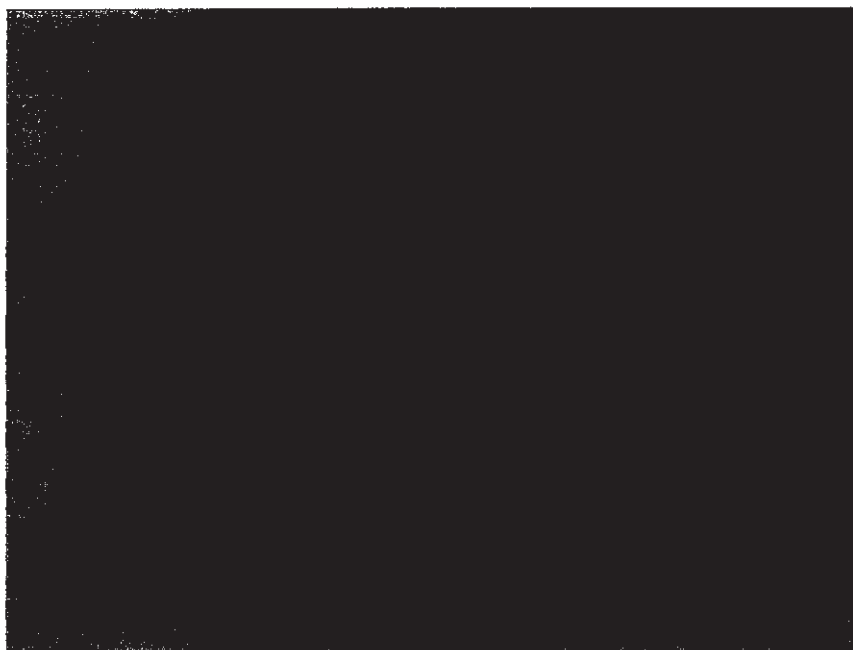


Obr. 26. Nález po kontrolní artroskopii 10
měsíců po transplantaci.



Obr. 27. Jehla k artroskopické biopsii.

Histologické nálezy



Obr. 28a. Přehledný snímek zachycující nově vytvořenou chrupavku hyalinního typu nasedající na kostní tkáň. Ve spodních vrstvách 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)



Obr. 28b. Identická oblast v detailu (zvětšeno 280x)

Rehabilitace po transplantaci autologních chondrocytů v kolenním kloubu

Úvod. Rehabilitace je dlouhodobá a vyžaduje mnoho trpělivosti. Důležitý je pravidelný kontakt pacienta s fyzioterapeutem. Rehabilitační program závisí na lokalizaci a velikosti ložiska a typu pacienta. Důraz je kladen na cvičení mobility, které stimuluje růst a správný vývoj transplantovaných buněk.

Skupina 1

- 1.-3. týden Chůze o 2 FH s postupně se zvyšující zátěží do bolesti.
- 4.-6. týden Chůze bez FH v místnosti (podmínka: nebolestivá, bez kulhání a při dobrém svalstvu kolena).
- 7. týden Chůze bez FH venku.

Skupina 2

- 1.-3. týden Chůze o 2 FH se zátěží do 20 kg.
- 4.-6. týden Chůze o 2 FH s postupně se zvyšující zátěží do bolesti.
- 7.-8. týden Postupná plná zátěž. Chůze bez FH v místnosti (podmínka: nebolestivá, bez kulhání a při dobrém svalstvu kolena).
- 9. týden Chůze bez FH venku.

Skupina 3

- 1.-6. týden Chůze o 2 FH se zátěží do 20 kg.
- 7.-9. týden Postupná plná zátěž. Chůze bez FH v místnosti (podmínka: nebolestivá, bez kulhání a při dobrém stavu svalstva kolena).
- 10. týden Chůze bez FH venku.

Při chůzi v době odlehčení vždy používat 2 FH. Jedna nestačí. Stoj na místě při rovnoměrné zátěži obou dolních končetin je možný bez FH.

CPM (mobilimat)

S CPM začínáme 1. - 2. den po operaci (8 hod. denně). Nejdříve v rozsahu 10°-40°, rozsah zvyšujeme na 0°- 60°, pokud je to přijatelné pro pacienta.

- 1.-3. týden cvičení mobility (flexe a extenze bez zátěže)
 - kroužení dolní končetinou
 - izometrické posilování m. quadriceps femoris
 - zvedání natažené dolní končetiny bez zátěže
 - v leže na boku abdukce dolní končetiny
 - stoj na špičkách
- 4.-6. týden zvedání natažené dolní končetiny se zátěží 1-2 kg
 - cvičení s gumovým tahem:
 - cvičení natažené dolní končetiny ve stoje ve všech směrech
 - cvičení flexe kolena do 90°
 - chůze (dle zařazení do skupiny)
 - jízda na rotopedu:
 - po dosažení flexe 100°, proti malému odporu, 10-15 min. denně
 - cvičení ve vodě

7.-10. týden nácvik správné chůze
jednoduché funkční cviky v uzavřeném řetězci
nácvik rovnováhy nejdříve na obou DK, postupně na jedné DK (dle zařazení do skupiny)
izometrické cviky m. quadriceps v různých stupních flexe kolena v uzavřeném řetězci (po povolení plné zátěže dle zařazení do skupiny) (obr.6)
leg press obou DK ve flexi 10°-70°
nácvik chůze na nižších schodech s oporou (obr.7)

11.-12. týden další funkční cviky, chůze na schodech bez opory, chůze po měkkém povrchu
jízda na rotopedu se zvyšujícím se odporem a dobou trvání
izometrické cviky m. quadriceps v různých stupních flexe v otevřeném řetězci

13. týden další funkční cvičení
izometrické cviky m. quadriceps v různých stupních flexe se zvyšující se zátěží
postupně se zvyšující doba chůze

dynamické cvičení m. quadriceps femoris se zátěží v otevřeném řetězci:
bez bolesti a zadrhávání, postupné zvyšování zátěže, cvičení s gumovým tahem,
cvičení extenze kolena na posilovacím stroji nejdříve 6 měsíců po operaci
(při ošetření defektů FP kloubu nejdříve 6-12 měsíců po operaci)

jogging:

pokud ujde bez problémů 5-10 km v nerovném terénu, ze začátku 5x 100 m

plavání:

kraul s nataženými DK za 6 týdnů po operaci, prsa za 2-4 měsíce po operaci

bruslení, běh na lyžích:

za 4-6 měsíců po operaci

golf:

za 4 měsíce po operaci

jízda na kole:

dobrý stav svalstva, bezproblémové nasednutí a sesednutí, nejdříve po rovnom terénu

řazení automobilu:

dobrý stav svalstva a dobrá koordinace, dostatečná síla pravé DK

Lehký otok a zvýšená teplota kolena v prvních měsících po operaci je normální. Při bolesti a větším otoku ve spojitosti s cvičením je třeba snížit zátěž. V kolenu se vyskytuje krepitace. Pokud není bolestivá považuje se za projev tvorby hypertrofické tkáně, která bude další zátěží přetvořena. Cviky vyvolávající zadrhávání v průběhu ROM cvičíme pouze v rozsahu nevyvolávajícím zadrhnutí.

Proces zrání chrupavky je pomalý a trvá 12-24 měsíců. Transplantované chondrocyty vyplní defekt za 3-6 měsíců. Novotvořená chrupavka má konzistenci: za 3 měsíce jako bavlna, za 6 měsíců jako těsto a za 9-12 měsíců jako sýr nebo guma.

Hyalograft C

kompresivní obvaz, (R drén bez aktivního podtlaku), 24-48 hodin po operaci imobilizace

2.-3. den CPM 0°-40° (0°-60°), 6 až 8 hod. denně

izometrické cvičení m. quadriceps femoris

6 týdnů zátěž do 20 kg (simulace zátěže), potom každý týden o 20 kg více

normální zátěž po 9-12 týdnech, chůze, rotoped, kroul

od 3 měsíce simulace normální aktivity

návrat k běžné aktivitě bez omezení za 6 měsíců po operaci

zvýšená zátěž 1 rok po operaci

2000 IKDC SUBJECTIVE KNEE EVALUATION FORM

Patients Part:

Your Full Name _____

Today's Date: ____/____/____
Day Month Year

Date of Injury: ____/____/____
Day Month Year

SYMPTOMS*:

*Grade symptoms at the highest activity level at which you think you could function without significant symptoms, even if you are not actually performing activities at this level.

1. What is the highest level of activity that you can perform without significant knee pain?

- Very strenuous activities like jumping or pivoting as in basketball or soccer
- Strenuous activities like heavy physical work, skiing or tennis
- Moderate activities like moderate physical work, running or jogging
- Light activities like walking, housework or yard work
- Unable to perform any of the above activities due to knee pain

5

2. During the past 4 weeks, or since your injury, how often have you had pain?

Never 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 Constant

11

3. If you have pain, how severe is it?

No pain 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 Worst pain imaginable

11

4. During the past 4 weeks, or since your injury, how stiff or swollen was your knee?

- Not at all
- Mildly
- Moderately
- Very
- Extremely

5

5. What is the highest level of activity you can perform without significant swelling in your knee?

- Very strenuous activities like jumping or pivoting as in basketball or soccer
- Strenuous activities like heavy physical work, skiing or tennis
- Moderate activities like moderate physical work, running or jogging
- Light activities like walking, housework, or yard work
- Unable to perform any of the above activities due to knee swelling

5

6. During the past 4 weeks, or since your injury, did your knee lock or catch?

- Yes No

2

7. What is the highest level of activity you can perform without significant giving way in your knee?

- Very strenuous activities like jumping or pivoting as in basketball or soccer
- Strenuous activities like heavy physical work, skiing or tennis
- Moderate activities like moderate physical work, running or jogging
- Light activities like walking, housework or yard work
- Unable to perform any of the above activities due to giving way of the knee

5

47

SPORTS ACTIVITIES:

8. What is the highest level of activity you can participate in on a regular basis?

- Very strenuous activities like jumping or pivoting as in basketball or soccer
- Strenuous activities like heavy physical work, skiing or tennis
- Moderate activities like moderate physical work, running or jogging
- Light activities like walking, housework or yard work
- Unable to perform any of the above activities due to knee

5

9. How does your knee affect your ability to:

		Not difficult at all	Minimally difficult	Moderately Difficult	Extremely difficult	Unable to do
a.	Go up stairs	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
b.	Go down stairs	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
c.	Kneel on the front of your knee	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
d.	Squat	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
e.	Sit with your knee bent	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
f.	Rise from a chair	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
g.	Run straight ahead	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
h.	Jump and land on your involved leg	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
i.	Stop and start quickly	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

5
5
5
5
5
5
5
5
5
5
5
5

45

FUNCTION:

10. How would you rate the function of your knee on a scale of 0 to 10 with 10 being normal, excellent function and 0 being the inability to perform any of your usual daily activities which may include sports?

FUNCTION PRIOR TO YOUR KNEE INJURY:

Cannot perform daily activities

- 0
- 1
- 2
- 3
- 4
- 5
- 6
- 7
- 8
- 9
- 10

No limitation

CURRENT FUNCTION OF YOUR KNEE:

Cannot perform daily activities

- 0
- 1
- 2
- 3
- 4
- 5
- 6
- 7
- 8
- 9
- 10

No limitation

11

61

44 + 61 = 105
105 - 18 = 87

SCORING INSTRUCTIONS FOR THE 2000 IKDC SUBJECTIVE KNEE EVALUATION FORM

Several methods of scoring the IKDC Subjective Knee Evaluation Form were investigated. The results indicated that summing the scores for each item performed as well as more sophisticated scoring methods.

The responses to each item are scored using an ordinal method such that a score of 1 is given to responses that represent the lowest level of function or highest level of symptoms. For example, item 1, which is related to the highest level of activity without significant pain is scored by assigning a score of 1 to the response "Unable to Perform Any of the Above Activities Due to Knee" and a score of 5 to the response "Very strenuous activities like jumping or pivoting as in basketball or soccer". For item 2, which is related to the frequency of pain over the past 4 weeks, the response "Constant" is assigned a score of 1 and "Never" is assigned a score of 11.

The IKDC Subjective Knee Evaluation Form is scored by summing the scores for the individual items and then transforming the score to a scale that ranges from 0 to 100. **Note:** The response to item 10 "Function Prior to Knee Injury" is not included in the overall score. The steps to score the IKDC Subjective Knee Evaluation Form are as follows:

1. Assign a score to the individual's response for each item, such that lowest score represents the lowest level of function or highest level of symptoms.
2. Calculate the raw score by summing the responses to all items with the exception of the response to item 10 "Function Prior to Your Knee Injury"
3. Transform the raw score to a 0 to 100 scale as follows:

$$\text{IKDC Score} = \left[\frac{\text{Raw Score} - \text{Lowest Possible Score}}{\text{Range of Scores}} \right] \times 100$$

Where the lowest possible score is 18 and the range of possible scores is 87. Thus, if the sum of scores for the 18 items is 60, the IKDC Score would be calculated as follows:

$$\text{IKDC Score} = \left[\frac{60 - 18}{87} \right] \times 100$$

$$\text{IKDC Score} = 48.3$$

The transformed score is interpreted as a measure of function such that higher scores represent higher levels of function and lower levels of symptoms. A score of 100 is interpreted to mean no limitation with activities of daily living or sports activities and the absence of symptoms.

The IKDC Subjective Knee Score can still be calculated if there are missing data, as long as there are responses to at least 90% of the items (i.e. responses have been provided for at least 16 items). To calculate the raw IKDC score when there are missing data, substitute the average score of the items that have been answered for the missing item score(s). Once the raw IKDC score has been calculated, it is transformed to the IKDC Subjective Knee Score as described above.

KOOS KNEE SURVEY

Today's date: ____/____/____ Date of birth: ____/____/____

Name: _____

INSTRUCTIONS: This survey asks for your view about your knee. This information will help us keep track of how you feel about your knee and how well you are able to do your usual activities.

Answer every question by ticking the appropriate box, only one box for each question. If you are unsure about how to answer a question, please give the best answer you can.

Symptoms

These questions should be answered thinking of your knee symptoms during the last week.

S1. Do you have swelling in your knee?

Never Rarely Sometimes Often Always

S2. Do you feel grinding, hear clicking or any other type of noise when your knee moves?

Never Rarely Sometimes Often Always

S3. Does your knee catch or hang up when moving?

Never Rarely Sometimes Often Always

S4. Can you straighten your knee fully?

Always Often Sometimes Rarely Never

S5. Can you bend your knee fully?

Always Often Sometimes Rarely Never

Stiffness

The following questions concern the amount of joint stiffness you have experienced during the last week in your knee. Stiffness is a sensation of restriction or slowness in the ease with which you move your knee joint.

S6. How severe is your knee joint stiffness after first wakening in the morning?

None Mild Moderate Severe Extreme

S7. How severe is your knee stiffness after sitting, lying or resting later in the day?

None Mild Moderate Severe Extreme

Pain

P1. How often do you experience knee pain?

- | | | | | |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Never | Monthly | Weekly | Daily | Always |
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

What amount of knee pain have you experienced the last week during the following activities?

P2. Twisting/pivoting on your knee

- | | | | | |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| None | Mild | Moderate | Severe | Extreme |
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

P3. Straightening knee fully

- | | | | | |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| None | Mild | Moderate | Severe | Extreme |
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

P4. Bending knee fully

- | | | | | |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| None | Mild | Moderate | Severe | Extreme |
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

P5. Walking on flat surface

- | | | | | |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| None | Mild | Moderate | Severe | Extreme |
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

P6. Going up or down stairs

- | | | | | |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| None | Mild | Moderate | Severe | Extreme |
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

P7. At night while in bed

- | | | | | |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| None | Mild | Moderate | Severe | Extreme |
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

P8. Sitting or lying

- | | | | | |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| None | Mild | Moderate | Severe | Extreme |
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

P9. Standing upright

- | | | | | |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| None | Mild | Moderate | Severe | Extreme |
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

Function, daily living

The following questions concern your physical function. By this we mean your ability to move around and to look after yourself. For each of the following activities please indicate the degree of difficulty you have experienced in the last week due to your knee.

A1. Descending stairs

- | | | | | |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| None | Mild | Moderate | Severe | Extreme |
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

A2. Ascending stairs

- | | | | | |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| None | Mild | Moderate | Severe | Extreme |
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

Knee and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS), English version LK1.0

For each of the following activities please indicate the degree of difficulty you have experienced in the last week due to your knee.

A3. Rising from sitting

None Mild Moderate Severe Extreme

A4. Standing

None Mild Moderate Severe Extreme

A5. Bending to floor/pick up an object

None Mild Moderate Severe Extreme

A6. Walking on flat surface

None Mild Moderate Severe Extreme

A7. Getting in/out of car

None Mild Moderate Severe Extreme

A8. Going shopping

None Mild Moderate Severe Extreme

A9. Putting on socks/stockings

None Mild Moderate Severe Extreme

A10. Rising from bed

None Mild Moderate Severe Extreme

A11. Taking off socks/stockings

None Mild Moderate Severe Extreme

A12. Lying in bed (turning over, maintaining knee position)

None Mild Moderate Severe Extreme

A13. Getting in/out of bath

None Mild Moderate Severe Extreme

A14. Sitting

None Mild Moderate Severe Extreme

A15. Getting on/off toilet

None Mild Moderate Severe Extreme

For each of the following activities please indicate the degree of difficulty you have experienced in the last week due to your knee.

A16. Heavy domestic duties (moving heavy boxes, scrubbing floors, etc)

None Mild Moderate Severe Extreme

A17. Light domestic duties (cooking, dusting, etc)

None Mild Moderate Severe Extreme

Function, sports and recreational activities

The following questions concern your physical function when being active on a higher level. The questions should be answered thinking of what degree of difficulty you have experienced during the last week due to your knee.

SP1. Squatting

None Mild Moderate Severe Extreme

SP2. Running

None Mild Moderate Severe Extreme

SP3. Jumping

None Mild Moderate Severe Extreme

SP4. Twisting/pivoting on your injured knee

None Mild Moderate Severe Extreme

SP5. Kneeling

None Mild Moderate Severe Extreme

Quality of Life

Q1. How often are you aware of your knee problem?

Never Monthly Weekly Daily Constantly

Q2. Have you modified your life style to avoid potentially damaging activities to your knee?

Not at all Mildly Moderately Severely Totally

Q3. How much are you troubled with lack of confidence in your knee?

Not at all Mildly Moderately Severely Extremely

Q4. In general, how much difficulty do you have with your knee?

None Mild Moderate Severe Extreme

Thank you very much for completing all the questions in this questionnaire.