

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ  
И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

*На правах рукописи*



Гончарук Юлия Романовна

**Оптическая спектроскопия в диагностике интраартикулярных повреждений  
коленного сустава**

3.1.8. Травматология и ортопедия

1.5.22. Клеточная биология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

**Научные руководители:**

доктор медицинских наук, профессор

Лычагин Алексей Владимирович

доктор химических наук, профессор

Тимашев Петр Сергеевич

Москва – 2023

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	15
1.1. Эпидемиология остеоартрита .....	15
1.2. Морфологические изменения при остеоартрите .....	17
1.3. Диагностика суставной патологии при остеоартрите .....	24
1.4. Спектроскопия .....	32
1.5. Резюме .....	45
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ .....	47
2.1. Дизайн исследования .....	47
2.2. Характеристика эксплантов и пациентов .....	50
2.3. Подготовка гистологических препаратов .....	52
2.4. Методы статистической обработки .....	53
ГЛАВА 3. ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСПЛАНТОВ СУСТАВНЫХ ПОВЕРХНОСТЕЙ КОЛЕННОГО СУСТАВА (ПЕРВЫЙ ЭТАП) .....	55
3.1. Техника взятия материала .....	55
3.2. Эксперимент <i>ex vivo</i> на эксплантах .....	57
3.3. Методика измерения оптических свойств хрящевой ткани с использованием метода диффузного рассеяния света .....	59
3.4. Методика измерения механических свойств при помощи индентирования ...	62
3.5. Результаты эксперимента на эксплантах <i>ex vivo</i> .....	64
3.6. Моделирование распространения света в хрящах с использованием моделирования Монте-Карло .....	67
3.7. Корреляция между оптическими и механическими свойствами и степенью повреждения хряща и субхондральной кости. Создание классификатора оптических параметров $I_{OH}$ , $I_{CH}$ , $k$ и $C$ .....	71
3.8. Гистологическое исследование .....	75
3.9. Корреляция между оптическими свойствами и гистологическими характеристиками хряща .....	82

3.10. Резюме .....	88
ГЛАВА 4. ИНТРАОПЕРАЦИОННОЕ ИЗМЕРЕНИЕ ОПТИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ СУСТАВНОГО ХРЯЦА (ВТОРОЙ ЭТАП).....	89
4.1. Методика исследования .....	89
4.2. Результаты измерений.....	93
4.3. Карта результатов артроскопии коленного сустава.....	95
4.4. Рабочая классификация степени хондропатии .....	97
4.5. Лечебно-диагностический алгоритм .....	97
4.6. Клинические примеры .....	98
ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	113
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	120
ВЫВОДЫ .....	131
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ .....	132
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	133
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	134
ПРИЛОЖЕНИЕ А.....	165
ПРИЛОЖЕНИЕ Б .....	166

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

Остеоартрит (ОА) – это заболевание опорно-двигательного аппарата, приводящее к инвалидизации и значительному ухудшению качества жизни пациента [70, 82, 113, 170]. В настоящее время остеоартрит все чаще встречается у пациентов трудоспособного возраста, что является как медицинской, так и социально-экономической проблемой [30, 34].

Ранние стадии остеоартрита, которые характеризуются нарушением суставного гомеостаза с биомеханическими и биохимическими изменениями [93, 114, 115, 125], изучены недостаточно подробно. Объективная диагностика раннего ОА проблематична из-за отсутствия постоянных клинических симптомов, характерных для поздних стадий заболевания, и классических рентгенологических признаков, таких как сужение суставной щели и остеофиты [16, 34, 209].

Повреждения внутрисуставных структур являются самыми распространенными и прогностически неблагоприятными при несвоевременной или ошибочной диагностике, что приводит к существенному ухудшению показателей качества жизни и активности пациентов [31, 174, 234]. Так, например, несвоевременная диагностика и определение степени повреждения субхондральной кости может привести к прогрессированию, а именно увеличению зоны отека с трансформацией в необратимый процесс – аваскулярный некроз кости [102, 107, 159]. Ошибки диагностики субсиновиальных повреждений связочного аппарата и оценки его функциональной состоятельности могут привести к развитию хронической нестабильности сустава, хроническому синовиту, прогрессированию внутрисуставной деструкции [6, 44, 276]. В этих случаях важна ранняя диагностика, поскольку успешное вмешательство на ранних стадиях заболевания может значительно отсрочить прогрессирование заболевания [9, 34, 177].

Одним из основных ограничений для ранней диагностики патологических изменений является начало самого заболевания, так как в начальных фазах оно протекает бессимптомно, а при обращении пациентов к врачам их характеристики превышают субклинический порог [270]. На начальном этапе изменение структуры и свойств хряща происходит на молекулярном уровне и характеризуется разрушением коллагеновых волокон в поверхностном и среднем слоях, потерей протеогликанов и гибелью хондроцитов [3, 14]. Такие изменения не вызывают видимых повреждений, которые способны выявить современные клинические методы визуализации, для их детектирования необходима разработка новых диагностических подходов [21]. Другой важной диагностической проблемой является необходимость детектирования механических свойств хряща. Несмотря на то, что макроскопические повреждения хряща возможно определить с помощью современных клинических методов визуализации, охарактеризовать изменения хряща возможно лишь при помощи артроскопии [37]. Простота и удобство такой оценки нивелируется высокой субъективностью, а также возможностью исключительно качественной характеристики. При артроскопии зондирование поверхности хряща проводится артроскопическим крючком, который позволяет обнаружить размягчение хряща лишь вокруг его локальных дефектов [12]. Таким образом, значительная часть поверхностных трещин и поражений может остаться незамеченной хирургом во время процедуры. В то же самое время детектирование механических свойств хряща, определяющих его состояние, имеет критическое значение при диагностике, выборе лечения и принятии решения об объеме хирургического вмешательства [34, 93].

Выявление факторов риска раннего ОА имеет решающее значение для начала адекватного и своевременного консервативного лечения и предотвращения прогрессирования заболевания до уровней, при которых реконструктивная хирургия становится единственным эффективным вариантом [34, 115].

На сегодняшний день наиболее распространенным неинвазивным методом диагностики хрящевых и костно-хрящевых дефектов является магнитно-резонансная томография, в то время как инвазивным «золотым стандартом»

внутриуставной патологии является артроскопия [58]. Эти методики позволяют диагностировать патологию хряща и субхондральной кости лишь тогда, когда дефект определяется визуально, а его восстановление уже весьма затруднительно – на поздних стадиях. К точным способам диагностики патологических изменений интраартикулярных тканей коленного сустава относят артроскопическую биопсию, однако она является разрушающим методом, который наносит дополнительную травму и требует периода восстановления с ограничением физических нагрузок [179, 240].

Состояние суставного хряща является в большинстве случаев определяющим фактором для формирования лечебной тактики и прогноза. В ходе операции крайне важно при обработке уже имеющегося хрящевого дефекта определить границы жизнеспособных тканей, что сложно сделать как визуально, так и с использованием артроскопических инструментов. Таким образом, имеющиеся в нашем распоряжении методики диагностики состояния суставного хряща не удовлетворяют современным потребностям, являются недостаточно информативными.

В настоящее время остается актуальным поиск новых, более объективных методов интраоперационной диагностики. Ни один из применяемых в практике методов не позволяет производить объективную оценку биомеханических и оптических свойств хряща в реальном времени и обнаруживать патологические изменения хряща, незаметные глазу хирурга [34, 261].

На сегодняшний день остается неясным, возможно ли достоверно диагностировать и идентифицировать ранний ОА и своевременно замедлить или предотвратить структурное заболевание у лиц с ранними симптомами [34, 50, 177, 269].

Методы ранней и точной диагностики позволят проводить своевременное и персонализированное лечение, они направлены на предотвращение развития осложнений и необходимости повторных дорогостоящих и, нередко, инвалидизирующих операций [161]. Актуальным является и вопрос развития

метода интраоперационной навигации с применением количественных методов оценки при операциях на опорно-двигательном аппарате [77, 214].

Существующие на сегодняшний день методы недостаточны для раннего выявления патологии, поэтому в медицине активно ведется разработка новых методов клинической, в том числе интраоперационной, диагностики [89, 220, 226, 263]. Так, обращают на себя внимание методы определения оптических свойств тканей, поскольку изменение этих свойств может свидетельствовать о наличии патологии [101, 199, 214]. Это подтверждается работами ряда авторов [46, 51, 63, 88, 178], однако пока нет четкой методики, которая позволила бы количественно определить и классифицировать изменения интраартикулярных тканей, что обуславливает актуальность настоящего исследования.

### **Степень разработанности темы исследования**

Для решения широкого пула клинических задач необходимо развитие новых методов и разработка приборов, позволяющих быстро и надежно проводить интраоперационную диагностику различных заболеваний, в частности остеоартрита [107]. Клиническая потребность в аналитических методах, позволяющих выполнять такого рода задачи, обусловлена субъективностью существующих методов диагностики интраартикулярных повреждений [34, 169, 265]. Оптические методы количественной диагностики могут успешно решить данную проблему, позволяя производить качественный и быстрый анализ состояния ткани на молекулярном уровне, получать воспроизводимые результаты, а также совмещать данные техники с артроскопическими инструментами [121, 198, 261].

Повысить качество диагностики на ранних стадиях поражения по сравнению с существующими известными способами могут методы оптической спектроскопии, обеспечивающие неразрушающую количественную оценку оптических параметров [295]. В настоящее время методы оптической спектроскопии позволяют определять границы опухолей желудочно-кишечного

тракта [89, 131, 221], детектировать и получать информацию о перфузии и оксигенации паразитовидной железы [133, 140, 245], используются для навигации в нейрохирургии [65, 85, 144, 244] и в урологии при литотрипсии [264], в диагностике бляшек в кардиохирургии, а также для выполнения оптической биопсии в онкодерматологии [188, 219] и при раке груди [64, 103, 143].

Из существующих методов спектроскопии наиболее подходящим для осуществления персонифицированного подхода в диагностике и лечении хрящевых и костно-хрящевых дефектов, субсиновиальных разрывов крестообразных связок и повреждений менисков является метод диффузного рассеяния света (ДРС) [88, 107, 178]. Спектроскопия диффузного отражения, как метод повышенной чувствительности, способна определять участки сниженной жизнеспособности тканей по оптическим параметрам, различать степень дегенерации хряща и субхондральной кости и детектировать границы дефекта даже на ранних стадиях [137]. Спектроскопия позволит, не разрушая ткани, осуществлять экспресс-диагностику, в том числе – интраоперационно.

В исследовании спектроскопии диффузного отражения, проведенном *in vitro* на образцах крупного рогатого скота, авторы пришли к выводу, что метод ДРС позволяет отличить интактный хрящ от патологически измененного [63]. В ряде исследований на эксплантах коленного сустава человека было установлено, что с помощью ДРС можно оценить толщину хряща коленного сустава человека, определить границы между нормальным и поврежденным хрящом, а также установить стадию прогрессирования остеоартрита [46, 88, 178]. По результатам проведенного *in vivo* исследования, где спектроскопия диффузного отражения была использована во время операции тотального эндопротезирования коленного сустава у 50 пациентов, была определена толщина хряща со средней ошибкой 8,7%, если фактическая толщина была менее 2,5 мм [51].

Использование в целях диагностики состояния и определения границ патологических изменений интраартикулярных тканей *in vivo* недостаточно проработано и в силу этого не нашло применения в клинической практике. Имеются лишь единичные публикации с недостаточной доказательной базой.

В связи с этим назрела необходимость существенно расширить возможности малоинвазивной диагностики патологических изменений интраартикулярных тканей на ранних стадиях.

### **Цель исследования**

Улучшение диагностики патологических изменений интраартикулярных тканей коленного сустава с помощью оптической спектроскопии.

### **Задачи исследования**

1. Обосновать возможности исследования состояния интраартикулярных тканей коленного сустава с помощью спектроскопии диффузного отражения на примере суставного хряща и субхондральной кости.
2. Определить корреляцию гистологических и спектроскопических характеристик, характерных для ткани суставного хряща.
3. Разработать методику интраоперационного применения спектроскопии диффузного отражения для уточнения состояния интраартикулярных тканей.
4. Создать рабочую классификацию степени поражения суставного хряща на основе данных спектроскопии диффузного отражения.
5. Разработать для пациентов с гонартрозом лечебно-диагностический протокол, включающий применение спектроскопии диффузного отражения

### **Научная новизна**

1. Впервые создана и успешно применена в клинической практике методика интраоперационной диагностики состояния интраартикулярных тканей коленного сустава на основе использования оптической спектроскопии.
2. Впервые доказана возможность определения состояния суставного хряща с помощью разработанной методики диффузной оптической спектроскопии и создан

классификатор деградации суставного хряща, в основу которого легли значения оптических параметров  $I_{OH}$ ,  $I_{CH}$ ,  $k$  и  $C$ . Показана высокая степень корреляции полученных данных с результатами гистологического исследования.

3. Впервые на основе данных оптической спектроскопии создана уточненная классификация степени поражения суставного хряща.
4. Разработан способ диагностики повреждений хряща и приемо-передающий зонд для проведения оптических волокон интраартикулярно.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Разработанная методика оптической спектроскопии существенно повышает точность интраоперационной диагностики, позволяя выявлять нарушения жизнеспособности и границы патологических изменений интраартикулярных тканей на ранней стадии, даже при отсутствии их макроскопических изменений.

Созданная на основе данных оптической спектроскопии классификация состояния интраартикулярных тканей позволяет скорректировать хирургическую тактику в ходе выполнения операции, повысив качество вмешательства и улучшив его результат.

### **Методология и методы исследования**

Исследование проводилось согласно Национальному стандарту Российской Федерации ГОСТ Р 52379-2005 при поддержке гранта РНФ 21-79-10325 и Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках соглашения №075-15-2021-596.

В клинике травматологии, ортопедии и патологии суставов Университетской клинической больницы №1 ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) в период с 2021 по 2023 гг. проведено проспективное нерандомизированное пилотное исследование, состоявшее из экспериментальной и клинической фаз. В работе изучался метод

оптической спектроскопии, для подтверждения которого было проведено гистологическое исследование с последующим анализом результатов и статистической обработкой полученных данных.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Оптическая спектроскопия позволяет выявить неопределяемую макроскопически дегенерацию интраартикулярных тканей и оценить их жизнеспособность.
2. Интраоперационная диагностика состояния суставного хряща с применением методик оптической спектроскопии расширяет возможности формирования персонафицированного подхода к определению хирургической тактики при выполнении артроскопии коленного сустава.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Диссертационная работа соответствует паспорту научной специальности 3.1.8. Травматология и ортопедия, а именно посвящена повышению точности интраоперационной диагностики интраартикулярных повреждений коленного сустава у пациентов, что будет способствовать сохранению здоровья населения, восстановлению трудоспособности, сокращению продолжительности и улучшению качества лечения, сокращению реабилитационного периода, повышению качества жизни. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования, согласно пунктам 1, 3, 4 паспорта научной специальности 3.1.8. Травматология и ортопедия.

Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 1.5.22. Клеточная биология, а именно посвящена изучению строения тканей. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования, согласно пунктам 1 и 10 паспорта научной специальности 1.5.22. Клеточная биология

## **Степень достоверности и апробация результатов**

Достоверность проведенного исследования определяется достаточным числом спектральных данных и данными проведенного клинического исследования, результатов аппаратных методов исследования, выполненных на современном оборудовании с использованием соответствующего программного обеспечения, применением современных методов статистической обработки данных.

Основные положения, изложенные в диссертации, были доложены и обсуждены на VI Всероссийском молодежном научном форуме IV Международной научной конференции «Наука будущего – наука молодых» (19 ноября 2021 года, Москва), Втором российско-китайском симпозиуме «Ортопедия будущего: нанотехнологии и искусственный интеллект» (9 ноября 2022 года, Москва) и Международном медицинском Конгрессе АРТРОМОСТ (26 ноября 2022 года, Москва).

Апробация диссертационной работы проведена на заседании кафедры травматологии, ортопедии и хирургии катастроф Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (протокол №8 от 30 августа 2023 года).

## **Внедрение результатов исследования в практику**

Результаты диссертационного исследования внедрены в клиническую практику Университетской клинической больницы №1 ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) и учебный процесс кафедры травматологии, ортопедии и хирургии катастроф Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

## **Личный вклад автора**

Автором лично была сформулирована тема настоящего исследования, проведен аналитический обзор зарубежной и отечественной литературы. Автором определены цель и задачи исследования, разработан дизайн исследования, проведена экспериментальная работа. Все материалы диссертации получены, обработаны и проанализированы лично автором: набор и исследование эксплантов, интраоперационная диагностика пациентов. Был проведен анализ результатов, заполнены протоколы клинических наблюдений, выполнена статистическая обработка полученных данных. Сформулированы выводы и практические рекомендации.

## **Публикации по теме диссертации**

По результатам исследования автором опубликовано 13 работ, в том числе 4 научных статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета/Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук; 2 статьи в научных изданиях, индексируемых в международных базах Scopus, PubMed, PubMed Central, BASE, CORE, Crossref, Google Scholar; 4 иные публикации по результатам исследования; 3 публикации в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций.

## **Объем и структура диссертации**

Текст диссертации изложен на 166 страницах стандартного текста, включающего введение, главу обзора литературы, главы собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации, список сокращений и условных обозначений, список литературы, содержащий 298

источников, из которых 44 отечественных и 254 зарубежных авторов. В работе 51 рисунок и 11 таблиц, 1 таблица в приложении.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Эпидемиология остеоартрита

Остеоартрит (ОА) – это заболевание опорно-двигательного аппарата, приводящее к дегенерации хряща в синовиальных суставах. Остеоартрит имеет широкое распространение и является частой причиной инвалидности, от которой страдают 250 млн человек во всем мире [10, 26, 34, 161]. Только в Соединенных Штатах Америки 14 млн человек имеют симптоматический ОА коленного сустава [116], при этом ежегодно ОА поражает один миллион пациентов, оказывая значительное влияние на экономику здравоохранения [60]. За 2018 год в России было выполнено 42 904 операции по артропластике коленного сустава. По данным мировой статистики к 2030 году ожидается, что количество артропластик коленного сустава вырастет с 1,16 млн до 3,48 млн [43]. Каждый год во всем мире выполняется примерно 2 млн артроскопических операций на коленном суставе, что связано с прямыми медицинскими затратами в размере 4 миллиардов долларов США [165]. По данным мировой статистики 9,6% мужчин и 18% женщин старше 60 лет имеют симптомы ОА, причем примерно 80% из них предъявляют жалобы на ограничение подвижности суставов и сильный болевой синдром. Рентгенологические признаки ОА обнаруживаются у 50% людей в возрасте 55 лет и у 80% — старше 75 лет [25, 36].

По результатам проведенных когортных и общественных исследований были опубликованы данные о распространенности ОА различных суставов в различных сообществах Южной Америки [235, 236] и Азии [119, 120, 174, 234].

В одном из крупных когортных исследований число нарушений повседневной жизнедеятельности было в 1,12–1,35 раза выше среди лиц с ОА по сравнению с лицами без него [132]. Также появляется все больше доказательств того, что ОА является фактором риска развития сердечно-сосудистых заболеваний. Мета-анализ показал, что риск инфаркта миокарда был значительно выше при ОА

[93, 157]. Кроме того, был обнаружен повышенный риск смертности от сердечно-сосудистых заболеваний [225].

ОА потребляет значительное количество ресурсов и затрат здравоохранения [39]. Средняя стоимость лечения ОА в Канаде увеличилась с 577 до 811 долларов на пациента в год в период с 2003 по 2010 год, в основном из-за затрат на эндопротезирование сустава [110].

Распространенность ОА коленных суставов зависит от исследуемой популяции. По данным недавнего исследования, заболеваемость ОА коленного сустава колеблется от 2,0 до 42,4% при использовании только клинических критериев диагностики, от 16,3 до 33,0% – рентгенологических критериев и от 1,5 до 15,9% – комбинации клинических и рентгенологических критериев. В России ОА коленных суставов поражает 13% населения в возрасте старше 18 лет [4].

Кроме того, частота ОА коленных суставов увеличивается с возрастом пациентов и больше в возрастной группе у женщин до 80 лет [4]. По некоторым данным, рентгенологический ОА встречается более чем у 90% пациентов старше 70 лет, а симптоматический – значительно реже [151].

Зачастую ОА является идиопатическим, то есть невозможно определить конкретную причину развития заболевания [19, 82].

Индекс массы тела (ИМТ)  $>30$  определяет в три раза больший риск развития раннего ОА по сравнению с нормальным весом, как при повышенной нагрузке на суставы, так и при метаболических изменениях с более высокими провоспалительными факторами. И наоборот, потеря веса снижает риск развития симптоматического раннего ОА коленного сустава и улучшает функцию сустава [115, 290]. Кроме того, умеренные физические нагрузки являются защитным фактором [22, 34, 230].

## 1.2. Морфологические изменения при остеоартрите

Было установлено, что ОА – это заболевание, которое поражает все ткани сустава, включая связки, синовиальную оболочку, хрящ и субхондральную кость (СК) [34, 134, 252]. При прогрессировании ОА происходят изменения в субхондральной кости за счет избыточного роста кости [168].

### Суставной хрящ

Суставной хрящ (СХ) представляет собой тонкий слой соединительной ткани с вязкоупругими характеристиками. Основными функциями хряща являются обеспечение скольжения суставных поверхностей и равномерное распределение нагрузок на нижележащую СК [35, 60, 146]. Суставной хрящ состоит из внеклеточного матрикса (ВКМ), хондроцитов и интерстициальной жидкости. Около 20% ВКМ приходится на сухое вещество, которое представлено коллагеном, протеогликанами (ПГ), в значительной степени агреканом и гликопротеинами. ПГ в основном представлены в виде скоплений, образованных высокими концентрациями отрицательно заряженных сульфатированных гликозаминогликанов (сГАГ) [228]. До 80% влажного веса суставного хряща составляет вода [34, 161].

Молекулярный состав и структура ткани определяют функции всего хряща: жесткость и эластичность зависит от типа коллагена, упругость при сжатии ткани определяется ее гидратацией [117]. Изменение молекулярного состава хряща, как правило, свидетельствует о его деструкции и развитии патологии [23, 54]. Такие изменения могут встречаться как у людей старшей возрастной группы, так и у лиц молодого возраста [34, 273].

Дегенерация хряща и изменение функции хондроцитов являются наиболее типичными признаками прогрессирования заболевания. При ОА происходит чрезмерная пролиферация и гипертрофия хондроцитов с последующей гибелью клеток [20, 161, 276].

Ранний ОА поражает суставной хрящ и СК помимо других структур сустава. Ранние проявления заболевания включают разрушение перицеллюлярного

матрикса суставных хондроцитов, связанное с аномальной активацией рецепторов клеточной поверхности [163] (Рисунок 1). Синтез белков поверхностной зоны (например, лубрицина) изменяется, что приводит к нарушению смазывания поверхности [185] и увеличению трения [115, 158].

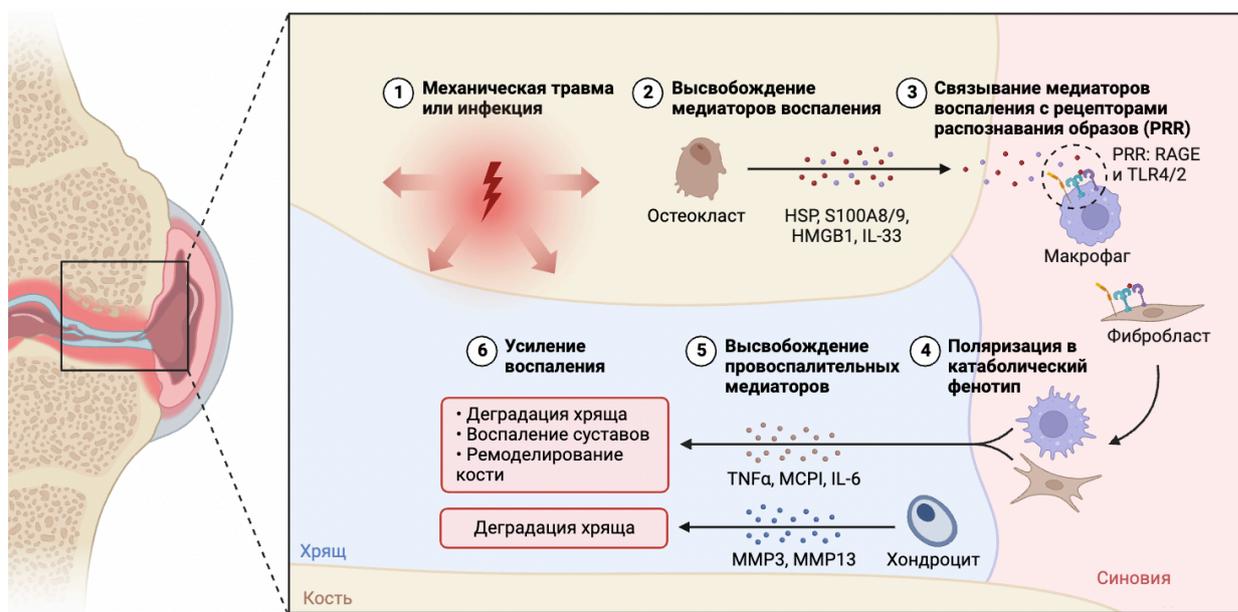


Рисунок 1 – Патогенез остеоартрита

Содержание ПГ на поверхности также снижается, а поверхностные части коллагеновой сети типа 2 разрушаются и впоследствии обнажаются. Поверхностные хондроциты изменяют свою пространственную организацию и образуют кластеры. Независимо от того, может ли потеря протеогликанов быть обратимой, эрозия коллагенов является критической точкой, поскольку эта поврежденная коллагеновая сеть не может быть регенерирована [135]. Небольшие фрагменты коллагена высвобождаются, активируя воспалительный каскад внутри хряща и вызывая воспаление синовиальной оболочки и выпот. Такое хроническое слабовыраженное воспаление часто присутствует в течение более длительных периодов времени, чем предполагалось ранее, что, возможно, еще больше способствует раннему нарушению гомеостаза хряща. Повышается катаболическая активность [254], что приводит к биохимическим изменениям в составе ВКМ, вызывая изменение его водосвязывающей способности при снижении

механической прочности, что приводит к более высокой деформации хряща под нагрузкой [233]. Поверхностная структура постепенно утрачивается, появляются трещины и уменьшается толщина хряща [34, 115].

#### Соотношение толщины хряща: конгруэнтность сустава

Толщина хряща у разных суставов неодинакова. Суставной хрящ оказывается более толстым в областях с низкой конгруэнтностью по сравнению с более тонким хрящом в областях с высокой конгруэнтностью. Более толстый слой хряща может легче деформироваться, тем самым увеличивая несущую площадь и уменьшая напряжение на единицу площади [179, 258].

Размягчение и увеличение толщины хряща чаще происходит из-за увеличения содержания воды в нем [203]. Отек костного мозга спадает после восстановления целостности субхондральной костной пластинки, однако в некоторых случаях остаются трещины или другие локальные дефекты.

Вода, содержащаяся в хряще, может быть постепенно вытеснена в субартикулярное губчатое вещество. Таким образом, можно объяснить образование субхондральных костных кист [34, 279].

#### Субхондральная кость

Опубликовано большое количество работ о механических свойствах нормального и патологически измененного суставного хряща, а также о морфологии и механических параметрах нижележащего субхондрального слоя кости [3] (Рисунок 2). Н. Duncan et al. определили «субхондральную пластинку» как зону, которая отделяет суставный хрящ от костного мозга и обычно состоит из двух слоев: кальцифицированной области суставного хряща и слоя пластинчатой кости [283].

Термин «субхондральная костная пластинка» или «субхондральная зона» используется для обозначения костной пластинки (кортикальной замыкательной пластинки), лежащей глубоко в кальцифицированной зоне суставного хряща. Линия, отделяющая кальцифицированную зону от субхондральной костной пластинки, называется «цементной линией». В зависимости от сустава субхондральная костная пластинка различается по толщине [34]. Формирующиеся

трабекулы называются «поддерживающими» и вместе с другими компонентами кости включены в термин «субартикулярный». Таким образом, субартикулярное губчатое вещество и субхондральная костная пластинка образуют субхондральную зону кости.

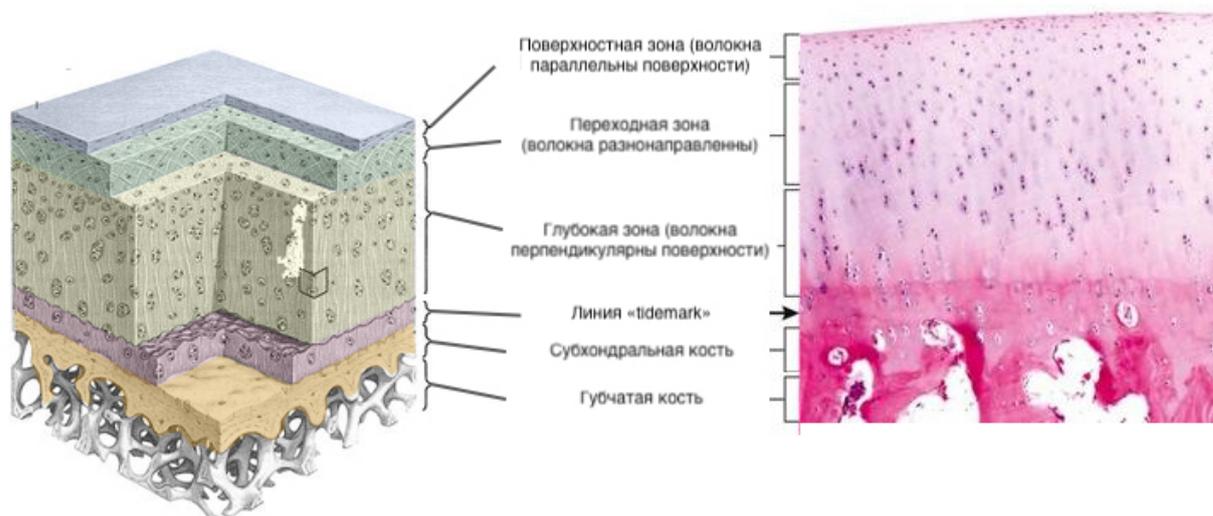


Рисунок 2 – Схема строения суставного хряща и СК. Гистологическая картина суставного хряща и СК [193]

Субхондральная костная пластинка состоит из двух минерализованных слоев, которые вместе образуют единое целое, отделяя суставной хрящ от костного мозга [34]. На суставной стороне пластины от линии контакта пластины с хрящом имеется рентгенологически более плотная, чем соседний хрящ, дискретная полоса минерализованного хряща. Она имеет сродство к многочисленным гистологическим красителям и называется линией «tidemark» [284]. Это не прямая линия поперек сустава, а сложная трехмерная структура, имеющая отчетливый трехслойный микроанатомический вид. Эта линия представляет слой кальцифицированного хряща и обеспечивает плавный переход между двумя разными областями хряща. Коллагеновые волокна (в основном, коллаген типа II) суставного некальцинированного хряща пересекают данную линию и переходят в волокна кальцинированного хряща. Эта линия, вероятно, имеет значимые биомеханические функции, так как изменяется в ответ на микротравмы и сдвигается в сторону некальцинированного хряща. Между этими двумя слоями

наблюдается значительное изменение жесткости. Кальцинированный хрящ простирается на разное расстояние от цементной линии к полости костного мозга, где происходит ремоделирование и заменяется пластинчатой костью, похожей на поддерживающие трабекулы. Эти трабекулы имеют преимущественно перпендикулярное направление к суставной поверхности, они пересекаются между собой под прямым углом с помощью более тонких трабекул [34, 179, 187].

Анатомия субхондральной области сильно варьирует. Эти изменения включают в себя контур линии «tidemark» и цементной линии, количество и тип перфораций в субхондральной костной пластинке, ее толщину, плотность и состав. Также были выявлены различия в трабекулярной структуре и механических свойствах областей, несущих и не несущих нагрузку [34, 55, 111].

Гиалиновый суставной хрящ в основном состоит из коллагена II типа. Для кальцинированного хряща характерно наличие в составе коллагена X типа, для замыкательной пластины кортикального слоя – коллагена I типа. Субхондральная пластинка под костно-хрящевым соединением состоит из параллельно идущих коллагеновых фибрилл [152]. Важно отметить, что коллагеновые волокна не всегда являются непрерывными. Между кальцинированным хрящом и кортикальной замыкательной пластинкой нет коллагеновых волокон [128] и костно-хрящевое соединение представляет собой «слабое место» [34]. Линия “tidemark”, напротив, отделяет кальцинированный хрящ от суставного хряща, пересекается коллагеновыми фибриллами, что приводит к армированию связи между этими двумя зонами.

#### Васкуляризация субхондральной костной пластинки

В субхондральной области можно увидеть большое количество артериальных и венозных сосудов, а также нервов. Субхондральная пластинка на всем своем протяжении пронизана полыми пространствами, которые обеспечивают прямую связь между некальцифицированным хрящом и полостью костного мозга. Эти пространства могут быть распределены по группам в соответствии с их формой [191]. В местах, где субхондральная пластинка тонкая, пространства имеют тенденцию к расширению и напоминают ампулы. В областях большей толщины

прослеживаются каналы. Иногда они включают более толстые субхондральные опорные трабекулы. Такие опорные трабекулы в наибольшей степени выражены в центральной части сустава, то есть в областях, где напряжение является наибольшим [34, 179].

Количество таких отверстий в зонах повышенной нагрузки позволяет предположить, что хрящ и подлежащая кость имеют богатое кровоснабжение [68]. Через эти каналы кровеносные сосуды могут напрямую достигать вышележащего суставного хряща [34]. L.V. Lane et al. показали, что плотность сосудов на 15–25% выше в нагружаемых областях [173]. Авторы также отметили, что васкуляризация и ремоделирование в субхондральной зоне кости изменяется не только в зависимости от напряжения в суставе, но и от уровня механического стресса в разных суставах.

#### Толщина и минеральная плотность субхондральной костной пластинки

Толщина субхондральной пластинки зависит от конкретного сустава и может варьировать в пределах одного сустава. В большинстве суставов хрящ выпуклой части, образующей сустав, более тонкий и однородный, чем в вогнутой части сустава, где центральная часть обычно представлена более толстой субхондральной пластинкой, чем на периферии [34, 102, 191, 268]. При измерении толщины субхондральной пластинки большеберцовой суставной поверхности было обнаружено регулярное и концентрическое региональное распределение толщины, показывающее увеличение толщины большеберцовой субхондральной основы в 7–12 раз, от периферии к ее центру.

Локальные различия в распределении плотности субхондральной костной пластинки также можно дифференцировать. Более высокая плотность обнаруживается в более нагружаемых участках поверхности сустава [86, 109].

У здоровых пациентов распределение плотности в большеберцовой кости показывает максимум в центрах медиального и латерального отделов суставной поверхности [73, 111].

Исследования подтвердили, что каждая поверхность сустава имеет воспроизводимые закономерности распределения плотности. Следовательно,

можно предположить, что эти закономерности распределения плотности коррелируют с воздействующей механической нагрузкой и отражают действующее долговременное напряжение [196].

#### Взаимодействие СК и суставного хряща

В нормальных суставах человека существует медуллярный путь [159, 153, 280]. Там, где существуют субхондральные каналы, питательные вещества могут достигать базальной зоны хряща (в частности, кальцифицированной зоны) через эти перфорации так же легко, как происходит диффузия между поверхностью хряща и синовиальной жидкостью [284], но там, где они отсутствуют, хрящ целиком и полностью зависит от синовиальной жидкости, как от единственного источника питания [34, 53].

Хрящевая ткань вплетается в неровную поверхность нижележащей субхондральной костной пластинки [152]. Это позволяет преобразовывать воздействующую силу во время сжатия и растяжения. Нормальный хрящ может выдержать примерно 2,5–5-кратную пиковую деформацию при нагрузке, возникающей при ходьбе. Субхондральная зона кости значительно усиливает фактор сопротивления: нормальная субхондральная зона кости может ослабить около 30% нагрузок на суставы, и лишь 1–3% ослабляется хрящом [34, 179].

СК и суставной хрящ образуют функциональную систему, изменения биохимического состава или морфологической структуры которой могут взаимодействовать друг с другом [79, 223, 240]. Исследования показали, что содержание сГАГ существенно меняется при дегенерации СХ, причем меняется раньше, чем состав коллагена, что может являться индикатором при мониторинге ранних дегенеративных изменений СХ [32, 184, 238, 271].

Было высказано предположение, что целостность СХ при ОА тесно связана с состоянием нижележащей кости [175]. По данным различных исследований, изменение степени минерализации субхондральной пластинки предшествует дегенерации СХ, при этом на ранней стадии остеоартрита патологические изменения в субхондральной пластинке отсутствуют [50, 79, 269, 277]. Однако

имеющиеся результаты невозможно сопоставить из-за различия образцов, условий проведения испытаний и методов исследования.

Минерализация СК играет решающую роль в патогенезе ОА – есть данные о высокой корреляции содержания сГАГ при прогрессировании ОА. В качестве дополнительного индикатора, отражающего изменения содержания сГАГ в хряще, можно использовать минерально-матриксное соотношение субхондральной кости. Рамановская спектроскопия (РС) – инвазивный метод, который позволяет измерять это соотношение; для неинвазивного измерения следует учитывать результаты других методов диагностики и сравнивать их с результатами рамановской спектроскопии [34, 75, 267, 285].

Снижение содержания сГАГ в хряще является отличительной чертой раннего ОА [50]. Для изучения патогенеза и ранней его диагностики следует уделять больше внимания минерализации СК в дополнение к ее микроструктуре [72]. Изменения биохимического состава и морфологические нарушения в СХ и СК при прогрессировании ОА нуждаются в дальнейшем систематическом изучении.

### **1.3. Диагностика суставной патологии при остеоартрите**

Для определения стадии заболевания существует большое количество применяемых классификаций и шкал для оценки патологии хряща и СК.

Существуют общепринятые критерии диагностики и для раннего ОА, такие как боль в коленном суставе, рентгенологические изменения степени 0, I или II по классификации Келлгрена-Лоуренса и, по крайней мере, один из двух следующих структурных критериев – артроскопические признаки поражения хряща; результаты МРТ, демонстрирующие дегенерацию суставного хряща и/или мениска, и/или субхондральный отек костного мозга. Ранее предполагалось, что для диагностики раннего ОА боль должна присутствовать как минимум в двух эпизодах продолжительностью более 10 дней за последний год [34, 98]. Пациенты с ранним ОА в основном описывают прерывистую диффузную боль в суставах, обычно усиливающуюся легким отеком после чрезмерной нагрузки (например,

занятий спортом), легкой крепитацией и/или болью при нагрузке, зависящей от угла. Боль облегчается отдыхом или такими видами деятельности, как езда на велосипеде с низким сопротивлением [70]. Боль при подъеме по лестнице часто является одним из первых симптомов. Положение на коленях или приседание связано с повышенным ощущением боли и повторяющейся нагрузкой во время или после спортивных упражнений [125]. Также можно предположить дополнительную нагрузку на СК, приводящую к соответствующей боли при нагрузке [180].

В настоящее время среди инструментальных неинвазивных методов диагностики суставного хряща и субхондральной кости широко известны следующие методы визуализации: рентгенография, ультразвуковое исследование (УЗИ), компьютерная томография (КТ) и магнитно-резонансная томография (МРТ), наиболее распространенным из которых является рентгенография. Рентгенография используется как первичный метод выявления костно-хрящевой патологии и мониторинга ОА [8].

В 1957 году Келлгреном и Лоуренсом была предложена классификация рентгенологического определения ОА, где:

- 0 – отсутствие изменений;
- I – сомнительная: незначительные остеофиты;
- II – минимальная: четко выраженные единичные остеофиты и минимальное сужение суставной щели;
- III – умеренная: умеренное сужение суставной щели и множественные остеофиты;
- IV – тяжелая: выраженное сужение суставной щели с субхондральным склерозом, грубые остеофиты.

К недостаткам классификации Келлгрена и Лоуренса можно отнести то, что они не учитывают наличие и выраженность клинических симптомов остеоартрита, а только его рентгенологические проявления.

Классификация Н.С. Косинской включает 3 стадии и позволяет выбрать наиболее эффективный способ лечения пациента, исходя из комплексной

характеристики стадии заболевания, поскольку кроме рентгенологических изменений учитывает и клиническую картину.

Совокупность клинических и рентгенологических данных в наибольшей степени отражают критерии, предложенные М. Lequesne (1982) [138], включающие ряд положений: болезненность и/или ограничение при пассивном сгибании коленного сустава (сгибание в норме не менее  $135^\circ$ , разгибание –  $0^\circ$ ); сужение щели бедренно-большеберцовых (медиального и/или латерального) или пателлофemorального суставов; остеофиты и/или субхондральный склероз и/или субхондральные кисты [25].

Рентгенография остается наиболее простым и общедоступным методом исследования суставов для оценки анатомических изменений структуры костей при ОА [37]. Метод высоко чувствителен при выявлении субхондрального склероза и остеофитов [7]. Существенным недостатком рентгенографии является то, что она не позволяет визуализировать начальные патологические изменения в тканях сустава, в связи с чем большинство больных начинают лечение только на стадии необратимых структурных изменений, когда репаративные возможности практически полностью утрачены [120].

Рентгенография позволяет выявить свободные костно-хрящевые фрагменты и сужение суставной щели, что является лишь косвенным признаком разрушения хряща и требует ряда дополнительных исследований [149, 296].

Компьютерная томография позволяет более точно, чем рентгенография, оценить структуру костной ткани, степень остеопороза, развившихся деформаций, сужения суставной щели [25, 41].

Проведено много исследований диагностических возможностей УЗИ и МРТ при повреждениях коленного сустава. Точность этих методов диагностики при различных повреждениях и заболеваниях коленного сустава неоднократно поднималась авторами многих национальных и международных научных работ [64].

УЗИ не позволяет регистрировать молекулярные изменения структуры хряща. Кроме того, чувствительность УЗИ в выявлении деградации хряща составила лишь 10% [87, 287, 286].

В последних исследованиях авторы начали сосредотачиваться на прогностической ценности дорентгенологических изменений [290].

На сегодняшний день наиболее точной неинвазивной методикой, позволяющей изучить состояние хряща, СК, менисков, связок, синовиальной оболочки, является МРТ, которая позволяет выявить ранние структурные нарушения, до появления рентгенологических признаков заболевания [94, 294]. Современные МРТ-сканеры в ортопедии имеют возможность использования различных секвенций сканирования, таких как T1, T2, PD, STIR, которые позволяют более точно диагностировать различные патологии. В сравнении с рентгенографией, благодаря возможностям МРТ становятся возможными визуализация суставного хряща и свободный выбор плоскости изображения. Достоинством метода является и отсутствие лучевой нагрузки.

МРТ является методом выбора в оценке хрящевых и костно-хрящевых повреждений, структуры субхондральной губчатой кости, а также процесса восстановления суставной поверхности после травм и реконструктивно-пластических операций [28, 29]. МРТ имеет важное значение для определения состояния прежде всего суставного хряща и мягкотканых изменений, а также позволяет достаточно точно диагностировать все элементы патологии пателлофemorального сочленения [15].

В 1987 году B.S. Yulish et al. разработали классификацию, основанную на данных магнитно-резонансной томографии, и выделили четыре степени деструкции [92] в зависимости от изменений сигнала внутри хрящевого слоя и на уровне дна дефекта, где:

- 1 степень — изменения внутри хряща без нарушения его целостности;
- 2 степень — нарушение непрерывности хряща средней степени с локальными повреждениями до 50% глубины;

- 3 степень — тяжелое нарушение непрерывности хряща с локальными изменениями более чем на 50%;
- 4 степень — отсутствие суставного хряща, обнажение субхондральной кости.

В 2004 г. была разработана классификация оценки восстановления хрящевой ткани MOCART (Magnetic Resonance Observation of Cartilage Repair Tissue), также основанная на данных МРТ [181]. Сравниваются показатели частоты встречаемости следующих переменных: объемное заполнение дефекта хряща, интеграция с краевой зоной, поверхность регенерата, структура регенерата, интенсивность сигнала регенерата, костный дефект и субхондральные изменения. Таким образом, перечисленные признаки в сумме дают общий балл от 0 до 100 баллов, где 100 означает наилучший эффект восстановления.

МРТ является высокоинформативным методом оценки повреждений менисков. По классификации Столлера выделяют четыре степени изменений мениска, где:

- степень 0 — это нормальный мениск;
- степень I — это зона локального изменения сигнала в мениске, не вовлекающей суставные поверхности;
- степень II — появление в толще мениска линейного сигнала повышенной интенсивности, не достигающего поверхности мениска;
- степень III — сигнал повышенной интенсивности, достигающий поверхности мениска.

В диагностике патологии суставного хряща широко используется МРТ, но в отношении ранних стадий хондропатии диагностическая точность МРТ ставится под сомнение [169, 265]. Применимость метода МРТ для диагностики ранних стадий ОА ограничена его разрешением 250–300 мкм, следовательно, оценка состояния хряща в значительной степени будет зависеть от интерпретации изображения. Кроме того, высокая стоимость, чувствительность к артефактам дыхательного движения и сердцебиения, относительно длительное время визуализации, размер оборудования и ограниченная доступность могут затруднить широкое клиническое применение [24, 281]. Также этот метод не применим для

пациентов с металлическими и ферромагнитными имплантатами, кардио- и нейростимуляторами, инсулиновыми помпами и при наличии кровоостанавливающих клипс сосудов головного мозга [282].

Потенциал современных неинвазивных инструментальных методов хорошо изучен. Вышеперечисленные способы диагностики широко применяются в клинической практике [25], однако обладают недостаточной информативностью на ранних стадиях хондропатии.

Возможности клинической диагностики ОА на сегодняшний день не ограничены рентгенографией, МРТ и УЗИ [48, 95, 243, 287, 297].

Для диагностики заболеваний и травм суставов, а также для лечения внутрисуставных патологий может использоваться артроскопия [62]. Артроскопическая хирургия коленного сустава является одной из наиболее распространенных ортопедических операций, выполняемых во всем мире [52, 171].

В 1961 году R.E. Outerbridge предложил макроскопическую оценку состояния хряща при диагностической артроскопии. В зависимости от характера повреждения гиалинового хряща присваивалась степень от 1 до 4 [170, 224], где 1 степень характеризовалась размягчением и отеком хряща, а 4 – наличием эрозий хряща с обнажением субхондральной кости.

Имеется более детальная классификация, разработанная Bauer и Jackson (1988), в которой выделено шесть типов локальных дефектов:

- I тип — линейная трещина хряща;
- II тип — растрескивание хряща неправильной звездчатой формы;
- III тип — лоскутное повреждение;
- IV тип — повреждение по типу кратера, проникающее до субхондральной кости;
- V тип — разволокнение хряща;
- VI тип — дегенеративный.

Широкое применение в клинической практике получила классификация дефектов хряща, также основанная на артроскопической оценке его состояния, предложенная Международным обществом восстановления хряща (ICRS) в 2000

году [150] (Рисунок 3, Приложение А). Она предусматривает 5 степеней повреждения.

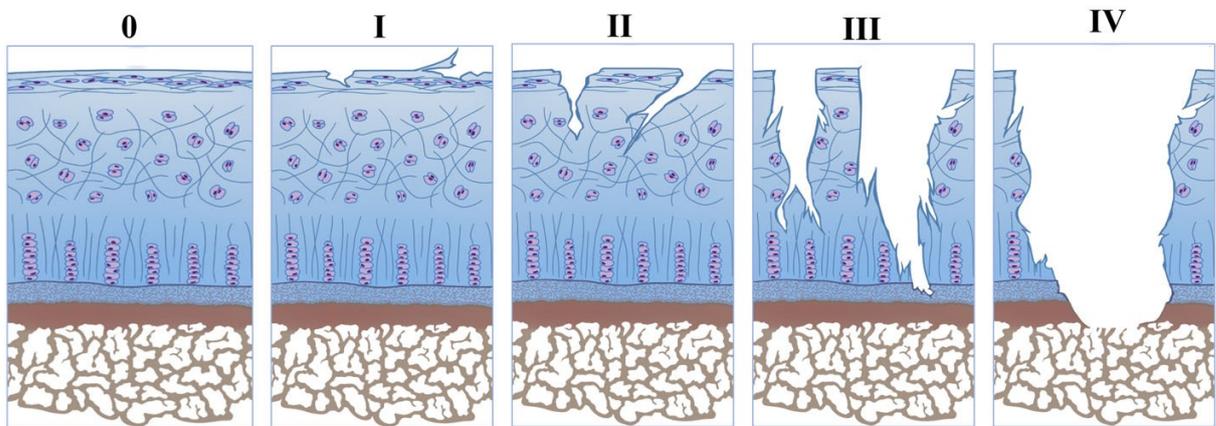


Рисунок 3 – Схематическое изображение изменений структуры хрящевой и костной ткани при различных степенях повреждения (классификация ICRS)

Поздние стадии хондропатии МРТ диагностирует достаточно уверенно и лишь ненамного уступает по точности артроскопии. Артроскопия является операцией, поэтому ее выполнение исключительно в диагностических целях сегодня считают неоправданным [61]. В связи с этим мы можем говорить только о диагностическом этапе артроскопии, а сама операция должна быть обоснована показаниями к каким-то хирургическим манипуляциям. Однако, диагностический этап порой вносит коррективы и в первоначальный диагноз, и в хирургическую тактику.

Визуальный осмотр и зондирование суставной поверхности во время артроскопии остается «золотым стандартом» диагностики [57, 58, 83, 261] – данный метод является минимально инвазивной хирургической процедурой, при которой обследование (а также лечение) повреждений выполняется с помощью артроскопа, который вводится в сустав через небольшой разрез. Тем не менее, артроскопия основана на качественной визуальной и тактильной оценке и не позволяет производить количественную оценку оптических свойств хряща, а также детектирование мелких дефектов, незаметных глазу хирурга. Несмотря на то, что механические характеристики хряща позволяют различать норму и патологию,

начальные стадии по-прежнему требуют повышения точности диагностики [15, 27, 34, 104].

Относительно новый метод визуализации, оптическая когерентная томография (ОКТ), обеспечивает сравнительно недорогой метод неразрушающего исследования тканей с разрешением порядка 15 микрон [139]. ОКТ способна представить оптические поперечные сечения ткани, сравнимые с ультразвуком [215], и визуализировать микроструктуру ткани [164].

С помощью ОКТ коллаген в нормальной ткани легко отличить от окружающей ткани благодаря двулучепреломляющим свойствам организованного коллагена [142, 202], однако, из-за особенностей конструкции томографа и необходимости контакта с исследуемой поверхностью методика не получила широкого применения в области ортопедии.

Вышеописанные ограничения используемых на данный момент клинических методов диагностики состояния суставных хрящей влекут за собой развитие новых методов и подходов минимально инвазивной экспресс оценки состояния хряща *in vivo*. Актуальными и востребованным подходами для решения таких задач являются методы оптической спектроскопии, позволяющие производить детектирование параметров тканей на молекулярном уровне [127, 199, 214, 241, 249, 288, 289].

*Гистопатологическое определение раннего остеоартрита.* Для гистологической оценки деградации хряща в настоящее время используются модифицированная шкала Манкина в модификации Крауса или гистопатологическая система OARSI (Osteoarthritis Research Society International) Международного общества исследования остеоартрита [192].

Характер и выраженность изменений хрящевой ткани сустава по модифицированной шкале Манкина оценивают в баллах, от 0 (норма) до 3 по каждому из 4 критериев [71, 278]. При максимальной выраженности патологического процесса комплексная оценка для 1 образца составляла 12 баллов.

Анализировали ряд показателей, а именно:

- структуру поверхности (неровности, эрозии, трещины, расслоение);

- клеточный состав (незначительное/значительное снижение количества хондроцитов, нет клеток);
- окрашивание (незначительное/значительное снижение окрашивания, нет окрашивания);
- пролиферацию клеток (изогенные группы хондроцитов – по 2 клетки в группе; изогенные группы хондроцитов – по 2 и 3 клетки в группе; очаги пролиферации – более 3 клеток в группе [14]).

Система морфологической оценки OARSI отличается сопоставимостью с макроскопическими изменениями суставного хряща. В классификации выделяют 7 степеней, отражающих глубину поражения [123] (Приложение Б).

Классификация OARSI, являясь высокотрудоемкой и узконаправленной, максимально точно отражает состояние суставного хряща, однако не находит широкого применения в настоящее время [210, 222]. Практическое применение морфологических методик ограничено их инвазивностью, травматичностью, технической сложностью и отсутствием возможности проведения экспресс-диагностики интраоперационно. То есть для того, чтобы использовать результаты такой диагностики, требуется предварительная операция для забора материала.

## 1.4. Спектроскопия

### Оптическая спектроскопия

Метод аналитической оптической спектроскопии зародился в 1834 году, когда Тальбот спектрально разделил красный цвет пламени стронция и красный цвет лития.

В 1941 году было опубликовано более 800 статей по определению концентрации элементов крови и других биологических жидкостей при помощи биоспектрофотометров; появился знаменитый спектрофотометр Цейса, а Бэкман и Кэрри создали спектрометр, включающий ультрафиолетовый диапазон [42].

К первоисточникам применения оптической спектроскопии в области медицины относят две публикации, а именно статью об инфракрасных спектрах

тканей [74] и статью о кривых инфракрасного поглощения для нормальных и опухолевых тканей [295]. В начале 1950-х годов характеристические групповые частоты были сведены в таблицы [66, 78, 166].

В 1990-е годы метод колебательной биоспектроскопии начал стремительно развиваться. Все проводимые исследования можно разделить на две категории: анализ *ex vivo* вне организма или визуализация извлеченных биожидкостей или иссеченных тканей; анализ *in vivo* на месте или визуализация части тела живого организма [167, 183]. В период с 2000 по 2012 годы многие из специалистов, изучавших биомедицинскую колебательную спектроскопию, внесли значительный вклад в развитие этой области и продвинулись в исследованиях больше, чем за всю предыдущую историю становления метода. На сегодняшний день биомедицинская колебательная спектроскопия в значительной степени опирается на математические методы анализа данных. Необходимо время, чтобы помочь спектроскопистам расшифровать и проанализировать большой массив экспериментальных данных, полученных с помощью биомедицинской спектроскопии, в клинически значимую информацию, которая может быть использована практикующими врачами.

Методы оптической спектроскопии основаны на четырех физических явлениях: поглощении, отражении, рассеянии и люминесценции [241, 247] (Рисунок 4). Как многие другие биологические ткани, молекулярная составляющая суставного хряща содержит связи C-H, O-H, N-H и S-H, которые отвечают за поглощение, отражение или рассеяние света в ткани в инфракрасном спектральном диапазоне [101]. Таким образом, ряд оптических методов позволит получить информацию о патологических изменениях поврежденных тканей на молекулярном уровне при ОА [34].

В соответствии с видами движения в молекуле оптическую молекулярную спектроскопию делят на электронную, колебательную и вращательную [13, 21].

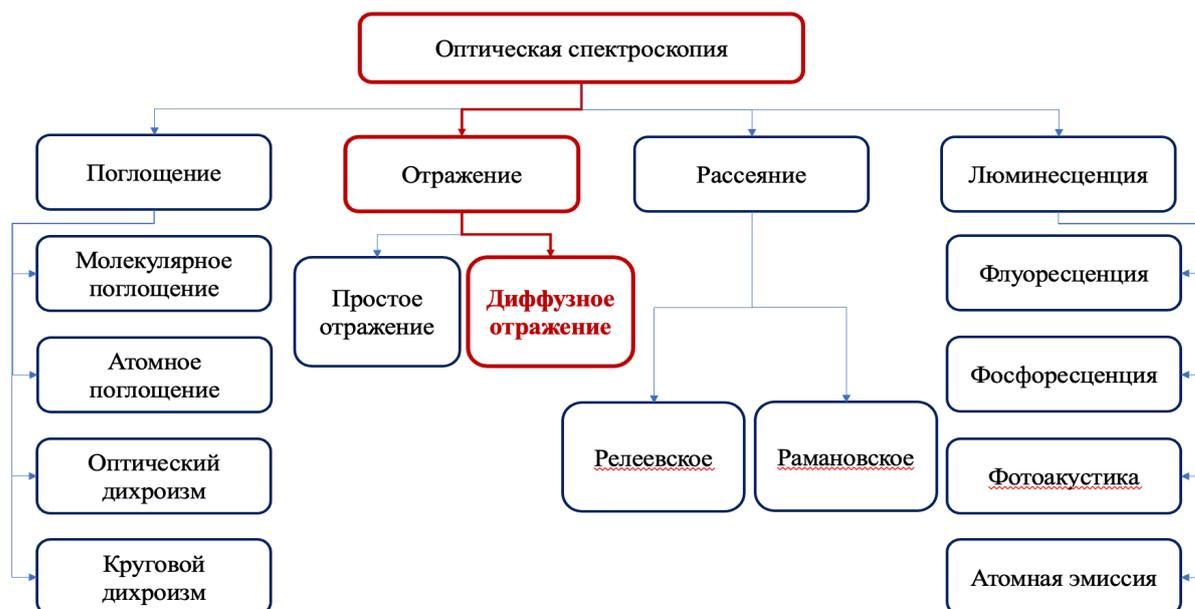


Рисунок 4 – Методы оптической спектроскопии

### Ближняя инфракрасная спектроскопия

Ближнее инфракрасное (БИК) излучение было открыто в 1800 году физиком-астрономом Вильямом Гершелем. Франс Йобсис в 1977 году демонстрирует возможность обнаружения изменений оксигенации коры головного мозга взрослых во время гипервентиляции с помощью спектроскопии в ближнем инфракрасном диапазоне.

Ближняя инфракрасная спектроскопия (БИКС) — это метод колебательной спектроскопии в спектральном диапазоне 800–2500 нм [121, 200], который дает сложные пики поглощения, являющиеся результатом обертонов основных пиков поглощения в инфракрасном спектральном диапазоне (2500–20000 нм) [176]. Поглощение в БИК-диапазоне происходит из-за обертонов и комбинаций валентных и деформационных колебаний связей O-H, C-H, N-H и S-H [49, 205], которые являются основными молекулярными связями в органических материалах. Пики в БИКС имеют тенденцию быть широкими и перекрываться; таким образом, этот метод неспецифичен и основан на хемометрике и многомерном анализе для извлечения скрытой/латентной информации из спектров материалов. БИКС основана на способности материалов поглощать и рассеивать БИК-свет на разных длинах волн.

Из-за более короткой длины волны БИК-волны обладают большей энергией, чем ИК-волны, и поэтому могут проникать в слои толщиной до нескольких миллиметров. С помощью БИКС можно исследовать нативные образцы. Поэтому метод является одним из методов неразрушающего анализа. Это делает метод идеальным для медицинских применений.

Начало применения функциональной БИКС восходит к 1992 году – первые исследования БИК-спектроскопии на людях были выполнены во второй половине 1991 и в 1992 годах, и затем опубликованы в 1993 году четырьмя исследовательскими группами [126].

В Институте электронных наук Университета Хоккайдо наблюдали билатеральные изменения оксигенации префронтальной коры у 14 добровольцев во время умственного задания с использованием одноканальной непрерывной волны (OM-100A, Shimadzu, Япония) [144]. Чтобы количественно обнаружить небольшое изменение поглощения в мозге, они использовали метод трех длин волн [140] для устранения артефактов рассеяния при функциональных исследованиях. Кроме того, они выявили различия в оксигенации префронтальной коры в зависимости от пола и доминирования одной из рук у 72 добровольцев [133].

В исследовании, проведенном в сотрудничестве с Такео Одзаки из отдела прикладных систем компании Hamamatsu Photonics (Япония), впервые изучалась функция зрительной коры человека во время и после фотостимуляции с использованием одноканального прибора непрерывного излучения NIRO-1000 [148, 213].

Эти предварительные наблюдения были позже подтверждены и уточнены группами из Университетского колледжа Лондона [244] и Берлинского университета им. Гумбольдта [85].

Метод БИКС-диапазона широко используется для нейровизуализации, что способствует продвижению понимания функционирования человеческого мозга.

С помощью БИКС была изучена речь у новорожденных/детей и взрослых [62, 106, 216, 239, 257]; когнитивная неврология [96], активация коры головного мозга во время двигательных задач [65], а также проведен контроль качества в

исследованиях функциональной БИКС [237]. Дальнейшее применение в диагностике ишемии связано с мышечным кровотоком и синдромом компартмента [73, 109], при нарушениях периферического кровообращения [160, 196, 201, 245, 258, 275].

Кроме того, БИКС можно использовать для чрескожного мониторинга уровня глюкозы в крови [79, 154, 156, 203, 206, 223, 279] для определения концентрации алкоголя в крови [207, 240], концентрации метгемоглобина [208, 228] или уровня различных лекарств в сыворотке [69, 184].

Еще одна потенциальная область применения — онкология [90]. БИКС позволяет различать «здоровую» и «больную» ткань. Это позволяет выявить границы опухоли, в том числе пораженные сторожевые лимфатические узлы. Возможно, в будущем удастся обойтись без трудоемкой экспресс-диагностики срезов для осмотра краев опухоли. До сих пор такие исследования были описаны для карциномы молочной железы [143, 238, 271], меланомы [112, 175] и карциномы предстательной железы [141, 269].

Хотя были достигнуты значительные успехи и в методах, используемых для моделирования переноса света в тканях головного мозга и для реконструкции изображений по оптическим данным [56], в настоящее время нет стандартизированного подхода к анализу данных многоканальных систем для создания абсолютных значений. Кроме того, индивидуальные различия в физических параметрах (например, толщина черепа и расстояние от черепа до коры) ограничивают интерпретируемость сигнала функциональной БИКС в отдельных исследованиях [132].

Благодаря способности БИКС контролировать ключевые химические [291], физические [232] и функциональные [231] свойства биологических материалов, метод был принят для оценки изменений функциональных, биохимических и структурных свойств суставного хряща.

Диагностика хряща на основе БИКС стала доступна при помощи устройства, одобренного в соответствии с MPG (Arthrospec-one, arthrospec GmbH, Йена, Германия). Это устройство состоит из источника инфракрасного излучения,

оптоволоконного кабеля, измерительного зонда, спектрометра и блока обработки данных на базе ПК. Зонд можно стерилизовать, и он имеет размер обычного артроскопического зонда. Артроскопический отпечаток со значением от 0 до 100 появляется в блоке оценки в режиме реального времени (за 1 с). Эта полуколичественная величина является результатом экспериментальных исследований [121, 145].

Изменения поглощения БИКС коррелируют с биомеханическими свойствами (твердость по Шору, модуль Юнга), а также с биохимическими изменениями (индекс содержания воды и относительное уменьшение содержания безводного матрикса) и гистологическими изменениями и, таким образом, отражают интегральную картину степени дегенерации хряща в пределах измеренных участков.

Была исследована возможность применения ИК-спектроскопии в диапазоне 2–2,5 мкм для выделения вклада отдельных компонент хрящевой ткани: коллагена и хондроитинсульфатов в их смесях, а также в образцах на основе ткани бычьего хряща [227]. Рост содержания коллагена соответствовал увеличению пиков на 4050 и 4260  $\text{см}^{-1}$ , для хондроитинсульфатов характерны пики в области 4020 и 4310  $\text{см}^{-1}$ . Также были получены высокие значения корреляции содержания коллагена и протеогликанов в хрящевой ткани, получаемой методами спектроскопии ближнего ИК (5400–3800  $\text{см}^{-1}$ ) и среднего ИК (800–2000  $\text{см}^{-1}$ ) диапазона [204].

Проведено исследование корреляции ИК спектров в диапазоне 4000–11000  $\text{см}^{-1}$  с толщиной хряща и гистохимической оценкой состояния хряща по шкале Манкина на эксплантах, где было показано, что отношение пиков поглощения 7280–6040/8820–8060  $\text{см}^{-1}$ , соответствующее отношению воды и органической матрицы коррелирует ( $R=0,61$ ,  $p<0,05$ ) с оценкой состояния хряща по шкале Манкина [274].

Известно, что сухожилия на 55–70% состоят из воды, связанной с ПГ; сухая часть включает коллаген (60–85%), эластиновые фибриллы (2%), ПГ (~1%) и неколлагеновые гликопротеины [97]. В работах [197] указывается, что спектры

диффузного отражения, измеренные в диапазоне 700–2200 нм позволяют построить классификаторы, предсказывающие ряд механических свойств сухожилий, среди которых прочность на разрыв, вязкость образца в точке текучести и разрыва.

Вопрос диагностики состояния суставов после травмы методом БИКС (1–2,5 мкм) был исследован на суставах пони [177].

Таким образом, БИКС была предложена в качестве потенциального метода объективной оценки дефекта хряща [214]. Достоинством метода является то, что применение БИКС возможно интраоперационно, в условиях диагностического этапа артроскопии, при этом толщина хрящевого слоя не влияет на результат измерений [122, 260].

#### Магнитно-резонансная спектроскопия

Магнитно-резонансная спектроскопия (МРС) *in vivo* может использоваться в качестве дополнения к МРТ [253]. Оба метода основаны на явлении ядерно-магнитного резонанса (ЯМР), который был открыт в 1946 году независимо двумя группами в Стэнфорде (Блох и др.) и в Гарвардском университете (Перселл и др.) [255]. В МРТ ядерно-магнитный резонанс преобразуются в пространственные изображения, а в МРС определяются концентрации критических метаболитов.

В МРТ измеряются резонансы  $^1\text{H}$  ЯМР от  $\text{H}_2\text{O}$ , в то время как МРС можно использовать для определения других молекул, связанных с различными патологическими состояниями. Спектры ЯМР  $^1\text{H}$  от определенных функциональных групп характеризуются определенными химическими сдвигами, поэтому конкретные метаболиты могут быть идентифицированы по уникальным «отпечаткам пальцев» ЯМР резонансов образцов известных соединений [248].

С помощью МРС были изучены изменения, связанные с опухолями (мозга, молочной и предстательной желез), эпилепсией, инсультами, судорожными расстройствами, болезнью Альцгеймера и Паркинсона, хореей Хантингтона, туберкулезом гипофиза, депрессией и другими психическими заболеваниями головного мозга. В исследованиях головного мозга были идентифицированы следующие метаболиты: N-ацетиласпартат, холин, креатин и фосфокреатин,

липиды, лактат, мио-инозитол, глутамат и глутамин [45, 182]. МРС может определить наличие злокачественного перерождения ткани предстательной железы с точностью около 90% [195]. Вполне вероятно, что сочетанное применение МРТ и МРС может предоставить необходимую информацию при персонифицированном выборе оптимальной тактики лечения [76].

Однако, есть мнения, что пространственное разрешение МРС при визуализационной оценке метаболических нарушений ограничено; это связано со сниженной чувствительностью из-за пороговых концентраций метаболитов и сниженной специфичностью, связанной с перекрыванием большого количества визуализационных признаков [80, 84].

#### Рамановская спектроскопия

Рамановская спектроскопия (РС) представляет собой биомедицинскую технологию исследования пораженных тканей – технологию, способную диагностировать ОА на ранних стадиях и определять оптические биомаркеры [217]. Данный спектр комбинационного рассеяния представляет собой определенные пики или полосы на определенной частоте или длине волны, составляющие четко определенный «молекулярный отпечаток» анализируемой ткани. После обработки данные могут быть классифицированы в соответствии с неконтролируемыми или контролируемыми статистическими методами, включающими диагностический анализ на основании дополнительной информации, полученной из «золотых стандартов», таких как результаты гистопатологии или рентгенографии [289].

Данные, извлеченные на основе алгоритма, можно интерпретировать и обсуждать в контексте сдвигов комбинационного рассеяния, соответствующих биологическим и/или биохимическим изменениям в хряще или окружающих тканях. Кроме того, РС можно комбинировать с другими колебательными методами, такими как спектроскопия с преобразованием Фурье и БИКС. Это позволяет более точно оценивать количественные и качественные характеристики суставного хряща [192].

Первое исследование с использованием РС для обнаружения повреждения суставов в хрящах человека установило коэффициенты деградации тканей, такие как соотношение хряща и кости (1063/958), соотношение фосфатов и коллагена (958/920), а именно мера соотношения минералов и органических веществ, и отношение карбонатов к фосфатам (1070/958), показывающее степень замещения карбонатов в кристаллах гидроксиапатита, что соответствует молекулярной картине прогрессирования ОА [127]. При этом на ранних стадиях ОА при микроскопии определяется деградация и дезорганизация коллагена, а на поздних стадиях – резкое снижение содержания протеогликанов [186].

Необходимо учитывать, что толщина хряща влияет на результаты РС, о чем свидетельствует наличие фосфатной полосы при  $957\text{ см}^{-1}$  в группах с дегенеративными изменениями.

Недавно авторы предложили всесторонний обзор РС для хрящевого внеклеточного матрикса и других тканей, обсуждая дальнейшие проблемы в биомедицинских приложениях [67].

РС применяется для оценки и характеристики свойств костей [136]. Наиболее характерными для кости полосами при РС являются полосы, относящиеся к минеральным компонентам, в частности, к гидроксиапатитфосфату ( $\nu_1\text{ PO}_4^{3-}$ ,  $\nu_2\text{ PO}_4^{3-}$  и  $\nu_3\text{ PO}_4^{3-}$ ) и карбонату В-типа ( $\nu_1\text{ CO}_3^{2-}$ ). В более старых костях отмечалось присутствие карбоната А-типа ( $1114\text{ см}^{-1}$ ) [242]. В исследованиях костей методом РС сообщалось о снижении отношения гидроксиапатита к коллагену ( $960/1244\text{ см}^{-1}$  и  $960/1268\text{ см}^{-1}$ ) и увеличение отношения карбоната к фосфату ( $1071/960\text{ см}^{-1}$ ), вероятно, связанное с компенсаторными механизмами в ответ на дефицит минерализации. Кроме того, увеличение дезорганизации вторичной структуры коллагена ( $1268/1244\text{ см}^{-1}$ ) свидетельствовало о дезорганизации коллагена в костном матриксе [192].

РС может отображать биохимический состав ткани [164], но требует определения и проверки панели оптических биомаркеров, основанных на вариациях «молекулярного отпечатка» здорового хряща и других тканей, вовлеченных в развитие ОА. К присущим большинству биологических образцов

ограничениям РС хрящевой ткани относят высокую флуоресценцию или слабую силу сигнала, что влияет на спектральное качество и точность обнаружения [192].

### Фотоакустическая спектроскопия

Фотоакустическая (ФА) визуализация имеет большую глубину проникновения и может поддерживать высокое разрешение во всем поле зрения [293]. ФА-сигнал, генерируемый менее поврежденной хрящевой тканью, обычно имеет более высокое отношение сигнал/шум и выглядит как гладкая и непрерывная поверхность.

Метод фотоакустической спектроскопии (ФАС) уже применялся в идентификации различных стадий ОА и полученные данные коррелировали с гистологическими оценками [266].

На ФА-изображениях субхондральная кость видна в определенном спектральном диапазоне, что также позволяет отслеживать изменения ее состава. Следовательно, будущие исследования субхондральной кости методом ФАС могут быть полезны и улучшат понимание патогенеза ОА. Более того, поскольку ФА-визуализация очень чувствительна к эндогенному контрасту, такому как гемоглобин, липиды и коллаген [229], ФАС может потенциально использоваться для визуализации кровоснабжения фиброзного капсульного слоя, менисков и крестообразных связок коленного сустава [34].

Ограничением является то, что спектральные данные от здорового человеческого хряща не были получены в качестве контроля из-за практической недоступности таких образцов [266].

*Обнаружение потенциального расслоения хряща.* Деламинация хряща определяется как дефект хряща с резкими краями или лоскут, и имеет большое клиническое значение – может повлиять на план лечения, особенно когда требуются специальные инструменты и имплантаты [194]. Таким образом, точная предоперационная идентификация расслоившегося хряща имеет решающее значение, но является сложной задачей [266].

Согласно литературным данным, образцы хряща с расслоением представляют собой уникальную спектральную ФА-картину, которую можно

использовать для дифференцировки повреждений от расслоения хряща. Визуально ФА-спектры поврежденного и расслоившегося хряща аналогичны спектрам от менее поврежденного хряща. Однако интенсивность ФА-сигналов в очаге расслоения обычно намного ниже.

*Характеристика целостности суставного хряща: количественная оценка травмы и дегенерации.* В дополнение к анализу для определения микро- и макроскопических свойств суставного хряща с помощью БИКС, метод ФАС также был предложен и применен для количественной оценки повреждения хряща, как потенциального средства оценки повреждений в режиме реального времени во время операций на суставах.

В настоящее время степень повреждения хряща оценивается артроскопически в соответствии с классификацией ICRS [77, 150], которая основана на относительной глубине повреждения. Однако было показано, что этот метод плохо воспроизводим [251, 261] из-за субъективности пользователя.

*Водно-амидное соотношение.* Параметр «водно-амидное соотношение», введенный G. Spahn [198], представляет собой отношение величины пиков поглощения полосы амид-вода (первые обертоны комбинации ОН и СН) к амидной полосе (второй обертоном СН) и количественно определяет содержание воды в хрящах [121, 198, 207]. Параметр основан на понимании того, что дегенерация приводит к увеличению содержания воды в хрящах. Низкий показатель соотношения определяется в нормальном хряще, а наиболее высокий – в дегенеративном (3–4 стадии ОА). Этот параметр был использован G. Spahn et al. [121, 198, 261] для различения дефектов хряща 1 и 2 степени в суставах человека [214].

#### Спектроскопия диффузного отражения

Для применения в условиях операционной в последнее время активно развивается метод спектроскопии диффузного отражения. Для реализации метода диффузного рассеяния света (ДРС) обычно используют источник белого света, затем диффузно-отраженный свет регистрируется спектрометром, что позволяет производить анализ оптического поглощения и рассеивающих свойств образца, в

том числе в БИК области. В биологических тканях наиболее заметны линии поглощения гемоглобина, меланина и воды, в зависимости от интересующего спектрального диапазона, они могут быть характерны для определенных типов тканей [147, 218].

Как известно, содержание воды в хрящевой ткани является важным диагностическим признаком. Изменение содержания и наблюдаемого поглощения воды в различных тканях характерно для протекания целого ряда различных заболеваний, к которым относятся заболевания сердечно-сосудистой системы, образование злокачественных опухолей и др. В недавних публикациях было показано, что детектирование опухолевой ткани может осуществляться с одной стороны по концентрации воды, определенной оптическими методами, с другой стороны по изменениям формы спектра колебательных линий воды в зависимости от ее локального окружения, которое также имеет место в случае некоторых злокачественных опухолей. Такие изменения в спектре обычно связывают с изменением структуры водородных связей [91]. Интерес представляет распространение данных идей на задачу диагностики хрящевой ткани.

Например, определяя коэффициент поглощения тканей, был определен объем крови и уровень оксигенации внутри кровеносных сосудов *ex vivo* [212, 262]. С другой стороны, параметры рассеяния ткани могут быть связаны с микроструктурой образца [105, 212]. Хорошо известно, что спектральный наклон коэффициента рассеяния коррелирует со средним размером основных рассеивателей [105, 212], и было показано, что распределение размеров рассеивателей [212], а также толщина суставного хряща колена человека [46] может быть также определена с помощью метода ДРС. С использованием данного метода была проведена диагностика содержания липидов и нервной ткани [218], а также обнаружена дисплазия *in vivo* [118].

Есть работы, результаты которых показали спектральные различия между хрящом и другими типами тканей [147]. Более того, были реализованы первые разработки применения методов машинного обучения для анализа спектров ДРС с целью автоматического определения типа ткани при операции [178]. Сигнал

отраженного света галогенной лампы от образцов хряща, субхондральной кости, мениска и губчатого вещества кости детектировался с использованием оптоволоконного спектрометра с минимальным разрешением 2,0 нм и Si CCD камеры. Более широкий диапазон длин волн с разрешением по длине волны более 8 нм позволяет добиться максимальной точности классификации. Диапазон длин волн 800–900 нм позволяет добиться наибольшей точности дифференцирования. Современные хирургические технологии ортопедии, доступные в клинической практике, полагаются на хирургов, которые визуально дифференцируют ткани. Технология ДРС относительно проста и обеспечивает неразрушающую методику дифференциации тканей. Использование этого метода диагностики в качестве диагностического инструмента уже было показано при исследовании ткани мочевого пузыря [264] и ткани груди [103, 226], где спектры упругого рассеяния были получены с использованием фиброоптического зонда, а также типов ткани мозга, где определение оптических свойств в БИК-диапазоне производилось путем измерения пространственно разрешенного диффузного отражения [155, 220], ткани шейки матки [263], толстой кишки [131, 189] и пищевода [118, 129], а также ткани яичников [246], поджелудочной железы [89, 221] и кожи [219, 298].

Были также предприняты первые попытки диагностики измерения молекулярной структуры эксплантов суставного хряща и субхондральной кости человека с использованием установки, позволяющей одновременное детектирование с использованием метода ДРС и РС [107].

В исследовании спектроскопии ДРС, проведенном *in vitro* на образцах крупного рогатого скота, авторы пришли к выводу, что метод ДРС позволяет отличить интактный хрящ от патологически измененного [163]. В ряде исследований на эксплантах коленного сустава человека было установлено, что с помощью ДРС можно оценить толщину хряща коленного сустава человека, определить границы между нормальным и поврежденным хрящом, а также установить стадию прогрессирования остеоартрита [46, 88, 178]. По результатам проведенного *in vivo* исследования, где спектроскопия ДРС была использована во время операции тотального эндопротезирования коленного сустава у 50 пациентов,

была определена толщина хряща со средней ошибкой 8,7%, если фактическая толщина была менее 2,5 мм [51].

Тем не менее, на данный момент значительно не хватает работ, посвященных применению техники ДРС для исследования состояния интраартикулярных тканей при ОА коленного сустава *in vivo*. С помощью данного метода можно получить ряд важных параметров патологического состояния хряща и субхондральной кости. Во-первых, измерение концентрации воды в образце. Содержание воды является важным диагностическим параметром, и данный метод уже был успешно применен для оценки увлажненности кожи [188] и для определения опухоли в случае онкологии груди [64]. При воспалительных процессах в хрящевой ткани обычно наблюдается увеличение содержания воды в среднем от 60–85% до более 90%. Вследствие чего особый интерес представляет сравнение содержания воды в хряще с его вязкоупругими свойствами и анализ выявления патологических состояний ткани по данным характеристикам. При анализе спектров субхондральной кости был сделан вывод об увеличении минерализованных компонентов в суставах, пораженных ОА [241].

## 1.5. Резюме

Существующие диагностические методики позволяют определить степень дегградации хряща уже в том состоянии, когда его восстановление крайне проблематично или вообще невозможно. А на более ранних стадиях методик уверенной диагностики пока нет. Методы ранней и точной диагностики позволяют проводить своевременное и персонафицированное лечение, они направлены на предотвращение развития осложнений и необходимости повторных дорогостоящих и, нередко, инвалидизирующих операций.

Спектроскопия может позволить существенно повысить разрешающую способность диагностики на ранних стадиях поражения по сравнению с существующими распространенными методиками, поскольку способна по оптическим параметрам выявлять участки хондропатии, не определяемые

визуально. Однако, не может быть использована в качестве интраоперационного количественного метода определения оптических параметров, пока не разработана методика применения. Извлечение и анализ эффективной спектральной информации может помочь отличить суставы, пораженные ОА, от здоровых, тем самым повышая вероятность ранней диагностики ОА.

Из существующих методов спектроскопии для целей такой диагностики в наибольшей степени подходит метод ДРС. С помощью данного метода можно не только осуществлять дифференцирование ткани, но и детектировать микродефекты и участки сниженной жизнеспособности хрящевой ткани по оптическим параметрам, значения которых позволят точно диагностировать степень деградации хряща и субхондральной кости даже на ранних стадиях. Однако на сегодняшний день не достает работ, посвященных применению метода ДРС для исследования состояния интраартикулярных тканей при ОА коленного сустава *in vivo*.

Поскольку применение этого варианта спектроскопии в ортопедической клинической практике для выявления ранних стадий ОА недостаточно проработано, настала необходимость обосновать эффективность, создать классификацию на основе новых диагностических возможностей, внедрить в практику и показать, как разработанный способ диагностики может повлиять на тактику лечения, обеспечив персонализированный подход.

Так, необходимость метода интраоперационной диагностики, позволяющего определять точные границы участков патологических изменений и объективно классифицировать степень деградации хряща, обуславливает актуальность данной работы.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Перспективное нерандомизированное пилотное исследование проводили в клинике травматологии, ортопедии и патологии суставов Университетской клинической больницы №1 ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) на базе кафедры травматологии, ортопедии и хирургии катастроф Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского, а также на базе Института регенеративной медицины Научно-технологического парка биомедицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) в период с 2021 по 2023 год.

План исследования одобрен этическим комитетом ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (№01-22 от 20.01.2022), а также зарегистрирован в системе ClinicalTrials.gov (ID от 07.2022 №: NCT05454605).

### 2.1. Дизайн исследования

Исследование было разделено на 2 этапа (2 группы) – экспериментальный и клинический.

Перед операцией все пациенты были проинформированы о целях и задачах исследования, а также условиях конфиденциальности и неразглашения персональных данных. Было подписано информированное согласие в двух экземплярах, один экземпляр выдавался пациенту на руки.

Экспериментальный этап включал в себя забор эксплантов пациентов после тотального эндопротезирования коленного сустава (группа 1). Получаемые в процессе операции экспланты представляют собой фрагменты бедренной и большеберцовой костей, покрытые хрящевой тканью.

*Критерии включения эксплантов в эксперимент:* экспланты пациентов, которым проводилось эндопротезирование коленного сустава, вне зависимости от пола и возраста.

*В эксперимент не включали экспланты с участками обызвествления на фоне инъекций глюкокортикостероидов; экспланты со значительными повреждениями суставной поверхности, полученными в ходе оперативного вмешательства (например, повреждения хряща коагулятором или фрагментирование экспланта в ходе резекции суставных поверхностей).*

Затем выполняли оценку эксплантов по шкале ICRS. Чтобы определить и обосновать возможности исследования состояния интраартикулярных тканей коленного сустава с помощью спектроскопии диффузного отражения проводили последовательные измерения оптических параметров путем измерения спектров ДРС и механических свойств методом индентирования. Для определения корреляции гистологических и спектроскопических данных проводили гистологическое исследование. Заключительной частью экспериментального этапа являлось создание классификатора деградации суставного хряща на основе количественных данных оптической спектроскопии.

Для проведения клинического этапа работы разрабатывали методику интраоперационного применения спектроскопии диффузного отражения.

На клиническом этапе работы (группа 2) интраоперационно через артроскопические доступы выполняли оценку хряща по классификации ICRS, измеряли оптические параметры путем измерения спектров ДРС с определением границ патологических изменений. Перед оперативным вмешательством пациентам выполняли МРТ.

*Критерии включения пациентов в исследование:*

1. Возраст старше 18 лет.
2. Предпринятое по медицинским показаниям оперативное вмешательство на коленном суставе: эндопротезирование (для первого этапа) или артроскопическая ревизия (для второго этапа).
3. Наличие информированного согласия на участие в исследовании.

*Критерии не включения* пациентов в исследование:

1. Системные воспалительные заболевания с поражением исследуемого коленного сустава.
2. Выполненные не позднее, чем 2 месяца назад, внутрисуставные инъекции глюкокортикоидов.
3. Злоупотребление алкоголем или применение наркотических веществ.
4. Неспособность к конструктивному сотрудничеству.

После проведения экспериментального и клинического этапов исследования проводили анализ результатов. На основе данных оптической спектроскопии создали рабочую классификацию степени хондропатии и разработали лечебно-диагностический алгоритм.

Схема дизайна исследования представлена на Рисунке 5.



Рисунок 5 – Дизайн исследования

## 2.2. Характеристика эксплантов и пациентов

На экспериментальном этапе в качестве предмета исследования в работе выступали экспланты фрагментов коленного сустава человека, которые были получены в процессе планового оперативного вмешательства — первичного тотального эндопротезирования коленного сустава.

Всем пациентам эндопротезирование коленного сустава было выполнено по поводу остеоартрита 3–4 ст. (по Kellgren-Lawrence) и в соответствии с критериями, сформулированными в работе А.В. Лычагина [25].

Для проведения экспериментального этапа исследования у 11 пациентов (8 женщин и 3 мужчин) (группа 1) в возрасте от 54 до 72 лет было отобрано 38 эксплантов с участками хондропатии I, II, III, IV степени (по шкале ICRS). Средний возраст в группе 1 составил  $64,18 \pm 6,01$  лет.

В клинический этап исследования были включены 10 пациентов (3 женщины и 7 мужчин) (группа 2) в возрасте от 28 до 56 лет для выполнения планового оперативного вмешательства – артроскопической ревизии коленного сустава. Средний возраст пациентов, включенных во 2 этап исследования, составил  $41,3 \pm 10,46$  лет.

Таблица 1 – Гендерная принадлежность пациентов

	Группа 1	Группа 2
Женщины	8 (72,7%)	3 (30,0%)
Мужчины	3 (27,3%)	7 (70,0%)
Итого	11 (100%)	10 (100%)

Из Таблицы 1 видно, что в группе пациентов, которым выполнили ТЭКС (экспериментальный этап исследования), преобладали женщины (72,7%), а в группе пациентов, которым выполнили артроскопию коленного сустава (клинический этап исследования) – мужчины (70%), что соответствует статистическим данным, приводимым в работах других авторов.

Рентгенологическое исследование являлось базовым и выполнялось всем пациентам. У пациентов экспериментального этапа исследования по

классификации Kellgren-Lawrence была диагностирована 3 ст. гонартроза в 63,3% случаев и 4 ст. в 36,4% случаев. У пациентов клинического этапа исследования, которым выполняли артроскопическое вмешательство, в 40,0% случаев диагностировали 1 ст. гонартроза, в 50,0% – 2 стадию и в 10,0% – 3 стадию (Таблица 2).

Таблица 2 – Рентгенологическая стадия ОА по классификации Kellgren-Lawrence, количество пациентов (%)

Стадия ОА	Группа 1	Группа 2
1	0	4 (40,0%)
2	0	5 (50,0%)
3	7 (63,6%)	1 (10,0%)
4	4 (36,4%)	0
	11 (100%)	10 (100%)

Перед оперативным вмешательством пациентам группы 2 в положении лежа на спине выполняли МРТ на аппарате Achieva (Philips) с напряженностью магнитного поля 1,5 Тл с использованием радиочастотной катушки для коленного сустава.

По данным МРТ наиболее часто встречающейся патологией было повреждение медиального мениска – у 7 (70,0%) пациентов, у 5 (50,0%) пациентов была выявлена антеромедиальная или мультинаправленная нестабильность коленного сустава, у 3 (30,0%) пациентов диагностирован хронический синовит, у 2 (20,0%) – гипертрофия жирового тела Гоффа, у 1 (10,0%) – параменисковая киста и еще у 1 (10,0%) пациента – гипертрофия медиопателлярной складки. У всех пациентов в группе имелись повреждения хряща: у 8 (80,0%) были выявлены дефекты глубиной менее 50% и у 2 (20,0%) – повреждения более чем на 50% глубины хряща или распространяющиеся на субхондральную кость. Перечень патологий, по поводу которых выполнялось оперативное вмешательство в группе 2, представлен в Таблице 3.

Таблица 3 – Встречаемость патологий в группе артроскопического вмешательства (группа 2), (%)

Патология	Встречаемость в группе
Повреждение медиального мениска	7 (70,0%)
Параменисковая киста	1 (10,0%)
Антеромедиальная или мультинаправленная нестабильность коленного сустава	5 (50,0%)
Гипертрофия медиопателлярной складки	1 (10,0%)
Гипертрофия жирового тела Гоффа	2 (20,0%)
Хронического синовит	3 (30,0%)
Дефект хряща менее, чем на 50% глубины	8 (80,0%)
Полнослойный остеохондральный дефект	2 (20,0%)

### 2.3. Подготовка гистологических препаратов

Для гистологического исследования образцы (Рисунок 6А) фиксировали в 10% нейтральном формалине (HistoSafe, Biovitrum), декальцинировали в специальном растворе (SoftyDek, Biovitrum) в течение 24 часов, промывали в проточной воде в течение часа, подвергали стандартной спиртовой проводке и заливали парафин. Парафиновые срезы толщиной 4 мкм (Рисунок 6Б) окрашивали сафранином О и быстрым зеленым по стандартному протоколу. Полученные микроскопические препараты изучали с помощью универсального микроскопа LEICA DM4000 B LED (Leica Microsystems, Германия), оснащенного цифровой видеокамерой LEICA DFC7000 T (Leica Microsystems, Германия).

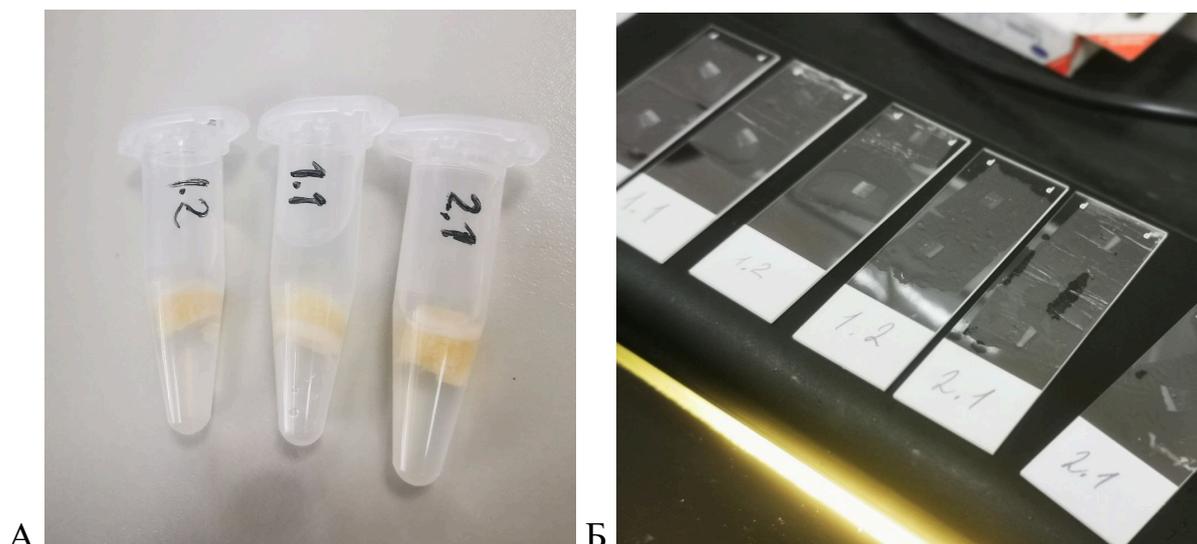


Рисунок 6 – А: костно-хрящевые образцы, фиксированные в 10 % нейтральном формалине. Б: парафиновые срезы толщиной 4 мкм

#### 2.4. Методы статистической обработки

Многогрупповые статистические сравнения между различными степенями остеоартрита ICRS оценивали с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни с использованием специально разработанных сценариев на основе языка программирования Python со статистическими моделями, библиотеками SciPy [256]. Всего для этого теста использовали 600 спектров ДРС, полученных от хряща для каждой степени повреждения (группы) по классификации ICRS. Были проверены предположения U-критерия Манна-Уитни (независимые измерения, ненормальное распределение и альтернативная изменчивость). Затем значения  $p$  для каждого парного U-критерия Манна-Уитни были пересчитаны с использованием поправки Бонферрони. Во всех многогрупповых попарных сравнениях значение  $p$  менее 0,05 считали показателем статистической значимости.

Статистический анализ гистологического исследования проводился с использованием программы StatTech v. 3.1.8 (ООО «Статтех», Россия). Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро-Уилка. Направление и теснота корреляционной связи между двумя количественными показателями оценивались

с помощью коэффициента корреляции Пирсона (при нормальном распределении), направление и теснота корреляционной связи между двумя количественными показателями оценивались с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена (при ненормальном распределении). Количественные показатели, имеющие нормальное распределение, описывались с помощью средних арифметических величин ( $M$ ) и стандартных отклонений ( $SD$ ), границ 95% доверительного интервала (95% ДИ). В случае отсутствия нормального распределения количественные данные описывались с помощью медианы ( $Me$ ) и нижнего и верхнего квартилей ( $Q1$ – $Q3$ ). Категориальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей [11].

## ГЛАВА 3. ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСПЛАНТОВ СУСТАВНЫХ ПОВЕРХНОСТЕЙ КОЛЕННОГО СУСТАВА (ПЕРВЫЙ ЭТАП)

### 3.1. Техника взятия материала

В процессе каждого оперативного вмешательства в асептических условиях все полученные экспланты были переданы участниками операционной бригады исследователю. После каждого оперативного вмешательства все экспланты были охарактеризованы по классификации ICRS [150], производили визуальную оценку на пригодность применения в исследовании (размеры, консистенция, сохранность суставного хряща, а также наличие повреждений, полученных в ходе оперативного вмешательства).

В стерильной емкости выполняли обильное промывание выбранных эксплантов физиологическим раствором NaCl 0,9% от крови и синовиальной жидкости. Вымытые экспланты заворачивали в марлевую салфетку и помещали в герметично закрывающийся транспортный контейнер с навинчивающейся крышкой. С целью предупреждения высыхания эксплантов в контейнер заливали небольшое количество фосфатного буферного раствора, хранящегося в холодильнике при температуре от +2 до +8°C не более 4 часов. Количество заливаемого раствора было достаточным, чтобы марлевая салфетка полностью пропиталась жидкостью, но при этом ее уровень не закрывал поверхность эксплантов. Дальнейшая работа с материалом происходила на базе Института регенеративной медицины Научно-технологического парка биомедицины Сеченовского Университета. После проведения экспериментов биологический материал утилизировали в соответствии с требованиями к утилизации отходов класса В.

У каждого пациента было забрано от 1 до 5 эксплантов (Рисунок 7, Таблица 4).

Из исследования было исключено 7 эксплантов, непригодных для картирования, а именно: с участками обызвествления на фоне инъекций

глюкокортикостероидов; экспланты со значительными повреждениями суставной поверхности, полученными в ходе оперативного вмешательства (например, повреждения хряща коагулятором или фрагментирование экспланта в ходе резекции суставных поверхностей).

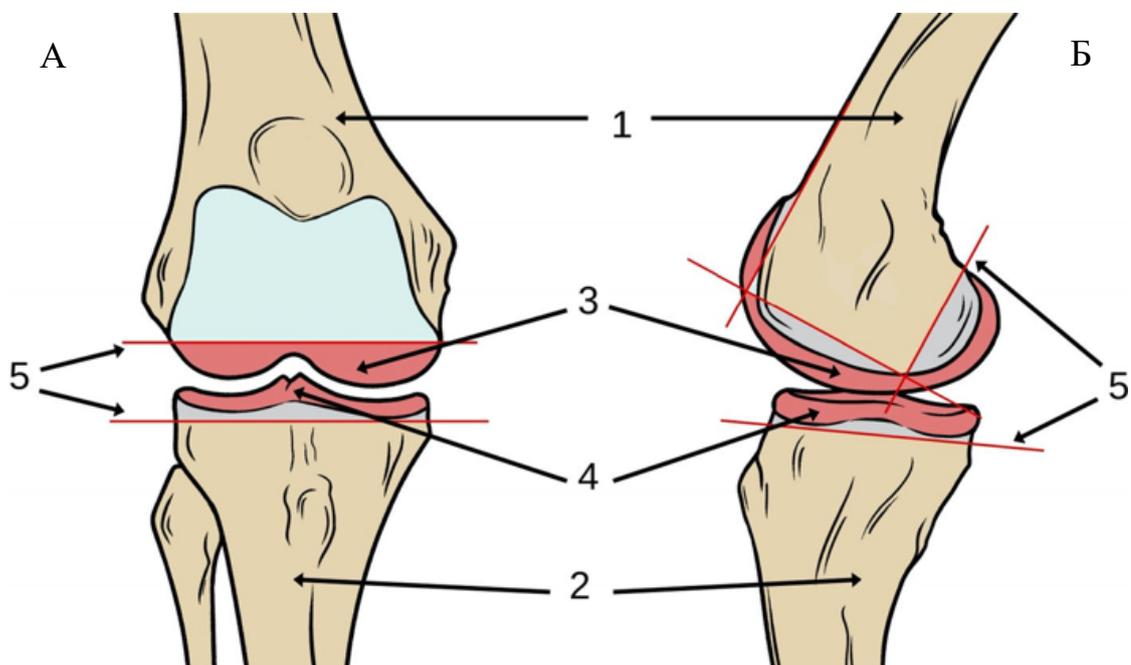


Рисунок 7 – Схема коленного сустава и забора эксплантов: А – вид спереди; Б – вид сбоку. 1 – бедренная кость; 2 – большеберцовая кость; 3 – участки резекции суставной поверхности бедренной кости; 4 – участки резекции суставной поверхности большеберцовой кости; 5 – линии резекции

Таблица 4 – Локализация забора эксплантов и их количество

Локализация забора экспланта	Количество включенных эксплантов	Количество исключенных эксплантов
Бедренная кость, передний отдел	6	2
Бедренная кость, блоковый отдел	8	1
Бедренная кость, задний отдел	11	1
Плато большеберцовой кости	6	3
Всего	31	7

### 3.2. Эксперимент *ex vivo* на эксплантах

Была поставлена задача определить и обосновать возможности исследования состояния интраартикулярных тканей коленного сустава с помощью спектроскопии диффузного отражения. Для решения поставленной задачи выполняли измерения оптических и механических параметров эксплантов коленного сустава (хряща и субхондральной кости), сопоставляя с данными гистологического исследования.

Также была поставлена задача создания классификации степени поражения суставного хряща коленного сустава на основе полученных значений оптических параметров.

Для сбора данных использовали метод спектроскопии отражения, основанный на получении спектров диффузного рассеяния света.

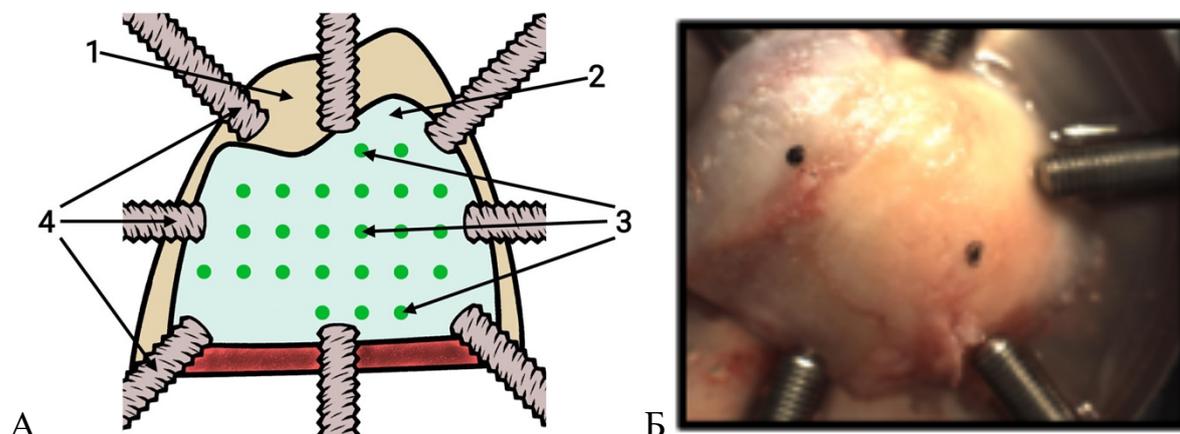


Рисунок 8 – А: схема фиксированного экспланта: 1 – костная ткань; 2 – суставной хрящ; 3 – точки индентирования (карта области измерения механических свойств экспланта); 4 – фиксирующие винты. Б: фиксированный эксплант. Маркером отмечены реперные точки

В ходе эксперимента для выполнения оптических и механических измерений экспланты фиксировали в специальной системе, обеспечивающей механическую фиксацию экспланта металлическими винтами (Рисунок 8). С целью измерения механических и оптических параметров в идентичных местах поверхности

экспланта маркером отмечали две реперные точки, которые являлись ориентирами для построения точек индентирования и получения спектров ДРС.

Нами были выделены 5 областей получения спектров ДРС – латеральный и медиальный отдел плато большеберцовой кости, блоковый отдел бедренной кости, латеральный и медиальный мышелки бедренной кости. Всего было получено 658 спектров от различных участков эксплантов, которые были классифицированы по ICRS: 40 спектров от участков нормального хряща, 71 спектр с 1 степенью, 113 – со 2 степенью, 185 и 249 – с 3 и 4 степенью, соответственно (Рисунки 9–11).

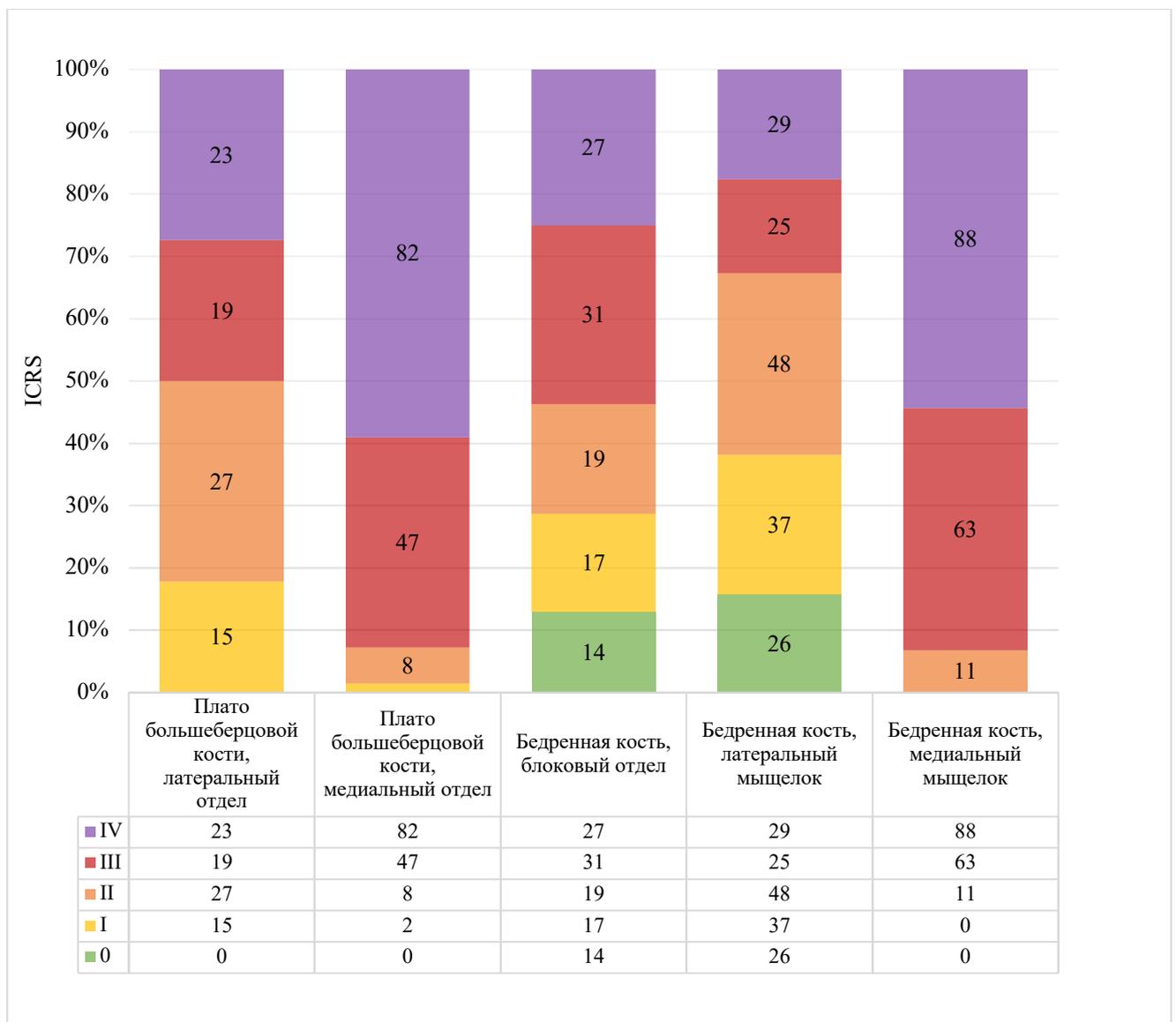


Рисунок 9 – Количество точек получения спектров от участков эксплантов разной степени деградации в зависимости от класса по шкале ICRS

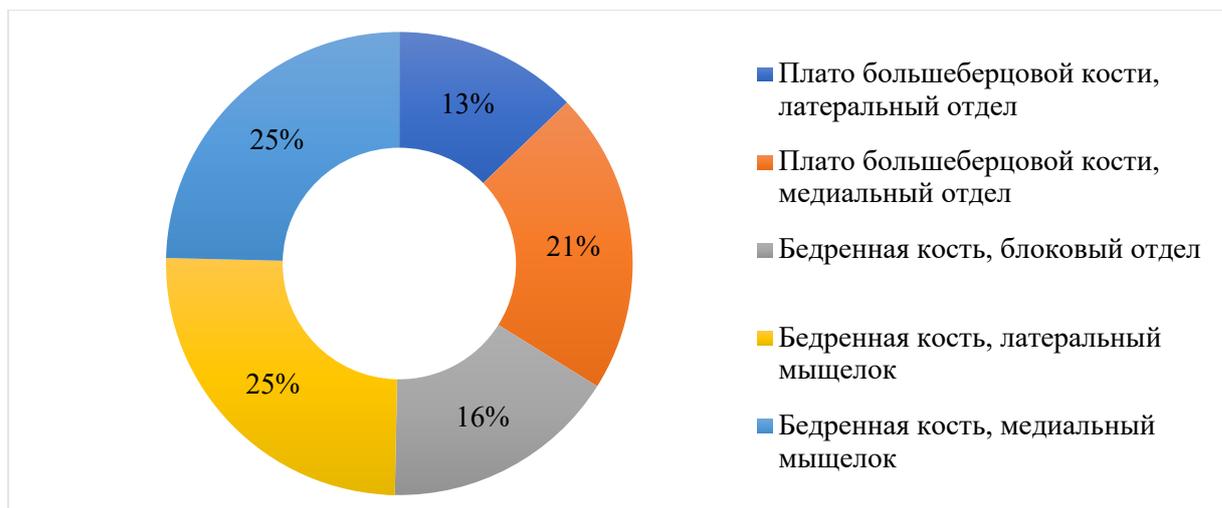


Рисунок 10 – Локализация забора эксплантов

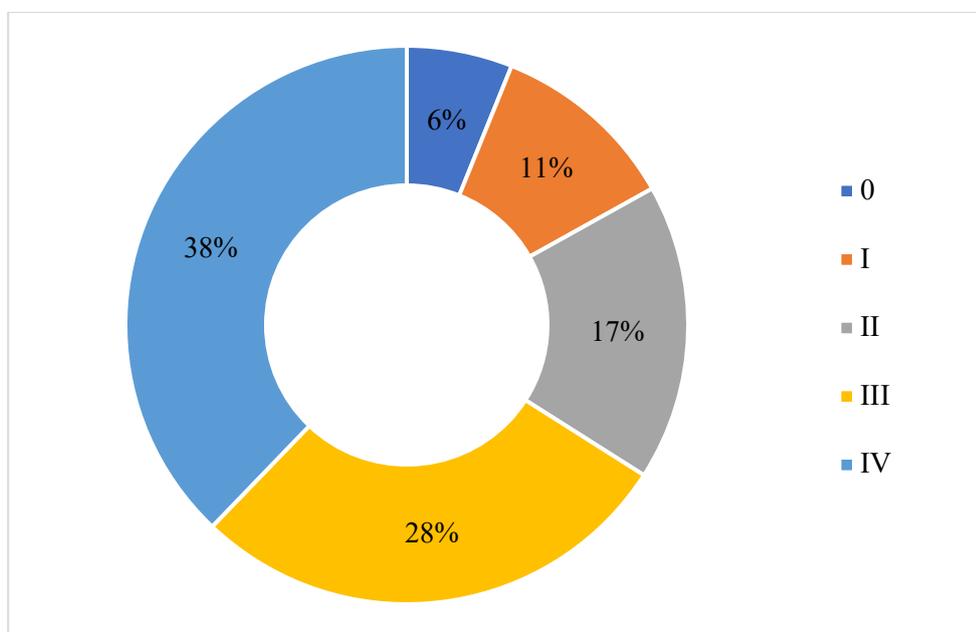


Рисунок 11 – Степень деградации забранных эксплантов по ICRS

### 3.3. Методика измерения оптических свойств хрящевой ткани с использованием метода диффузного рассеяния света

Для регистрации спектров диффузного рассеяния света (ДРС) в режиме реального времени использовали зонд (Рисунок 12), состоящий из двух оптических волокон (диаметр 550 мкм, числовая апертура 0,22), закрепленных на расстоянии 2,5 мм.



Рисунок 12 – Схема приемо-передающего зонда, состоящего из двух оптических волокон

Минимальное усилие, необходимое для установления прочного контакта кончика отповолоконного зонда с поверхностью экспланта, выбирали перед измерениями. Эта сила составила 0,3 Н. При измерении оптических параметров с контактной силой 0,3 и 3 Н спектры диффузного отражения отличались менее, чем на 10%, и такой разброс считали несущественным. В связи с этим мы выбрали меньшую контактную силу, чтобы не деформировать поверхность хряща для последующих измерений его механических свойств.

Перед каждой серией экспериментов измеряли эталонный спектр лампы  $I_{ref}$ , полученный при измерении от стандарта диффузного отражения, а также фоновый спектр  $I_{bg}$ .

В результате измерения спектров ДРС был рассчитан спектр отражения  $R(\lambda)$ :

$$R(\lambda) = \frac{I - I_{bg}}{I_{ref} - I_{bg}}, \quad (1)$$

где  $I$  – спектр сигнала, отраженного от хряща или мениска. Значения оптической плотности в зависимости от длины волны – эффективный спектр поглощения  $OD(\lambda)$  рассчитывали следующим образом:

$$OD(\lambda) = -\log_{10}(R(\lambda)). \quad (2)$$

Из полученного спектра  $OD(\lambda)$  далее определяли оптические параметры следующим образом:

1. Определяли значение наклона  $k$  ( $\text{нм}^{-1}$ ) и константы  $C$  для прямой, проходящей через точки 850 и 1050 нм спектра  $OD(\lambda)$ , характеризующей рассеяние света в ткани хряща по формулам:

$$k = \frac{OD(1050) - OD(850)}{1050 - 850}, \quad (3)$$

$$C = OD(850), \quad (4)$$

где  $k$  и  $C$  характеризуют рассеяние света в ткани хряща.

2. Данная прямая описывается уравнением

$$y = k(\lambda - 850) + C. \quad (5)$$

3. Рассчитывали индекс содержания воды  $I_{OH}$  как высоту спектра  $OD(\lambda)$  над данной прямой на длине волны 980 нм:

$$I_{OH} = OD(980) - (k \cdot (980 - 850) + C). \quad (6)$$

4. Аналогично определяли значение величины  $I_{CH}$  как высоту спектра  $OD(\lambda)$  в точке 930 нм относительно прямой, проходящей через точки 910 нм и 950 нм:

$$I_{CH} = OD(930) - (k_2 \cdot (930 - 910) + C_2), \quad (7)$$

где:

$$k_2 = \frac{OD(950) - OD(910)}{950 - 910}, \quad (8)$$

$$C_2 = OD(910). \quad (9)$$

Затем с помощью рассчитанных значений оптических параметров также определяли толщину хрящевой ткани коленного сустава в области измерения по формуле:

$$d = \frac{(I_{OH} - 0.062)}{0.025} \text{ мм}. \quad (10)$$

Значения полученных параметров позволяли определить стадию деградации, а также вычислить толщину хрящевой ткани коленного сустава. Реализация данного подхода достигается за счет сравнения получаемых экспериментальных данных с калибровочной прямой зависимости  $I_{OH}$  и  $I_{CH}$  от толщины хрящевой ткани, а также зависимости значений  $I_{OH}$ ,  $I_{CH}$ ,  $k$  и  $C$  от степени деградации по ICRS, которая подтверждалась гистологически.

Последовательно в заданных точках картирования определяли механические параметры при помощи индентирования.

В качестве источника света для метода ДРС использовали вольфрам-галогеновую лампу со сплошным спектром излучения (Thorlabs, Германия). Регистрация отклика осуществлялась в диапазоне 850–1050 нм с помощью спектрометра QE2000pro (OceanOptics, США) (Рисунок 13).

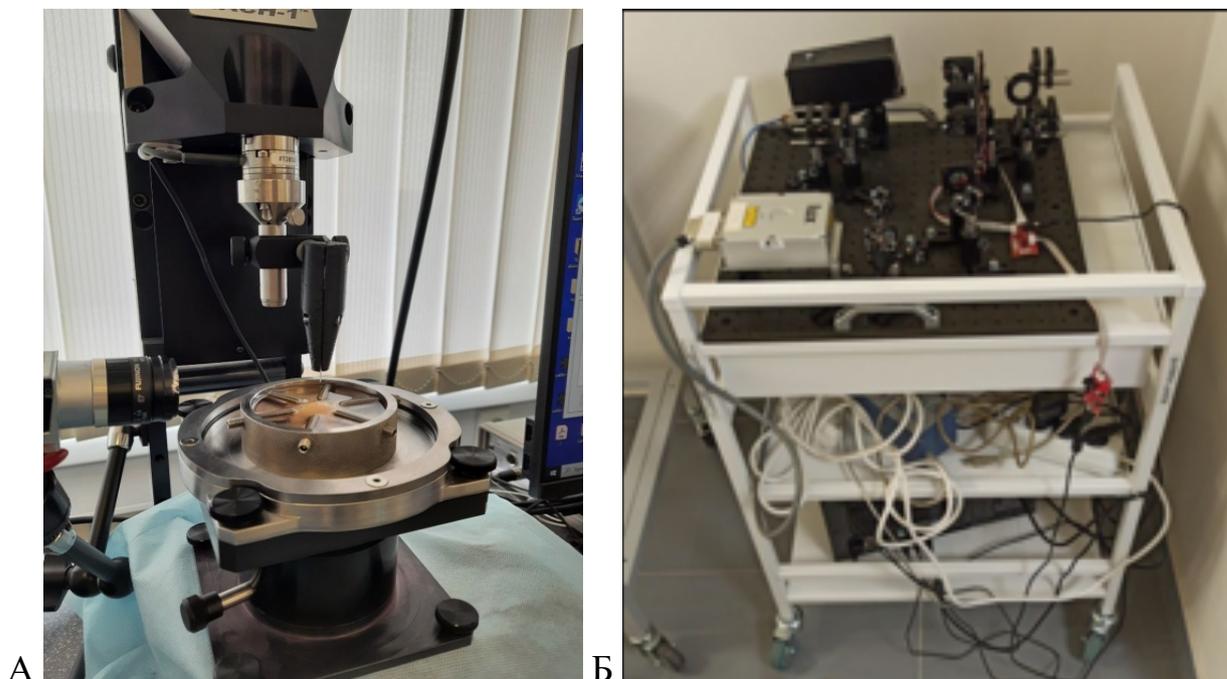


Рисунок 13 – А: фотография совмещения индентора (радиус 1 мм) с разработанным двухволоконным зондом для регистрации оптических параметров хряща; Б: фотография разработанной мобильной установки, используемой в исследовании

### 3.4. Методика измерения механических свойств при помощи индентирования

Для исследования взаимосвязи между оптическими и механическими свойствами хрящевой ткани проводили последовательное картирование механических характеристик эксплантов, определяя механические параметры и толщину хряща методом перфорации иглой.

Измерения механических свойств и толщины проводили на микромеханической системе Mach-1™ v500csst (Biomomentum Inc., Лаваль, Квебек, Канада).

Эта система позволяет выполнять нормальное индентирование путем одновременного перемещения трех ступеней с использованием многоосевого

тензодатчика (диапазон 250 Н и разрешение 12,5 мН по всем осям). Нормальное вдавливание выполняли со скоростью 0,1 мм/с сферическим рубиновым индентором радиусом 1 мм. Глубина вдавливания была установлена равной 1 мм. После достижения пороговой глубины (1 мм) или силы (10 Н), в зависимости от того, что произойдет раньше, зонд удерживали в постоянном положении в течение 15 секунд, чтобы зарегистрировать релаксацию силы для дальнейшего вязкоупругого анализа. Затем зонд отводили и перемещали к следующей точке измерения.

В зависимости от размеров хряща и выявленных зон на его поверхности на квадратной координатной сетке устанавливали от 10 до 40 точек с заданным расстоянием между соседними точками 2,5 мм. После картирования в режиме нормального индентирования толщину хряща измеряли в тех же точках в режиме картирования методом перфорации иглой с пороговым усилием 14 нН. Использовали иглу диаметром 1,1 мм (19G) и длиной 25 мм. Локальную толщину  $H$  определяли по графику зависимости силы от вертикального перемещения при прокалывании хряща иглой, а именно по разнице между точкой начала прокола хряща и точкой касания кости с учетом направления нормали поверхности экспланта, определяемую из взаимного расположения точек поверхности в окрестности точки прокола при картировании зондом со сферическим наконечником.

Для оценки механических параметров использовали модель Ли-Радока с поправкой на конечную локальную толщину мягкого слоя. Экспериментальные кривые обрабатывали по стандартной модели Герца (также с поправкой на конечную толщину), рассматривающей образец как чисто упругий. Численную обработку проводили в программе MATLAB (MathWorks, США).

Для описания экспериментов по вдавлению-релаксации хрящевой ткани в качестве функции релаксации была выбрана стандартная модель линейного твердого тела (SLS), где основными параметрами являются: мгновенный модуль Юнга  $E_0$ , равновесный модуль Юнга  $E$  и время релаксации. Полученные результаты заносили в базу данных.

Таким образом, по разработанной методике был проведен эксперимент, включающий измерения механических свойств при помощи индентирования и количественное исследование оптических параметров интраартикулярных тканей коленного сустава, позволяющий производить диагностику состояния интраартикулярных тканей на примере хряща и субхондральной кости методом спектроскопии ДРС.

Полученные оптические параметры  $I_{OH}$ ,  $I_{CH}$ ,  $k$  и  $C$  позволяют определить стадию деградации с помощью модели машинного обучения, а также вычислить толщину хрящевой ткани коленного сустава ( $d$ ). Анализ полученных оптических параметров позволит создать на их основе классификацию поражений хряща и субхондральной кости.

### 3.5. Результаты эксперимента на эксплантах *ex vivo*

Для исследования взаимосвязи между оптическими и механическими свойствами хрящевой ткани проводили последовательное картирование оптических и механических характеристик эксплантов (Рисунок 14А, Рисунок 14Б) [137]. Измерения проводили с расстоянием между волокнами 2,5 мм для каждого из 31 экспланта от больных ОА.

На Рисунке 14В показан типичный вид эффективного спектра поглощения. Максимум эффективных спектров поглощения на длине волны 980 нм соответствует поглощению молекул воды (колебания ОН связи). Менее интенсивный пик на длине волны 930 нм соответствует полосе поглощения СН. Этот пик более интенсивен для костной ткани, чем для хрящевой, поскольку он имеет более высокое содержание белкового матрикса и более низкое содержание воды. Таким образом, вклад полосы СН становится более выраженным по мере уменьшения толщины хряща.

Чтобы связать зарегистрированные спектры с механическими характеристиками и параметрами степени повреждения хряща, для каждого спектра рассчитывали ряд признаков, определяемых комбинацией параметров

рассеяния и поглощения. Базовую линию, проходящую через точки при 850 и 1050 нм, описывали с помощью коэффициента наклона  $k$  и значения  $C$  при 850 нм. Относительно этой линии вычисляли амплитуду полосы ОН ( $I_{OH}$ ) на длине волны 980 нм. Для определения вклада поглощения СН ( $I_{CH}$ ) рассчитывали интенсивность пика относительно прямой линии, проходящей через 810 и 850 нм.  $C$  и  $k$  определяли как процессами поглощения, так и процессами рассеяния, поэтому их было трудно описать в явном виде. Однако, поскольку эти параметры слабо коррелируют с  $I_{OH}$  ( $R = 0,35$  и  $R = 0,3$  соответственно) и  $I_{CH}$  ( $R = 0,33$  и  $R = 0,43$  соответственно), можно сделать вывод, что они в основном связаны с рассеянием.

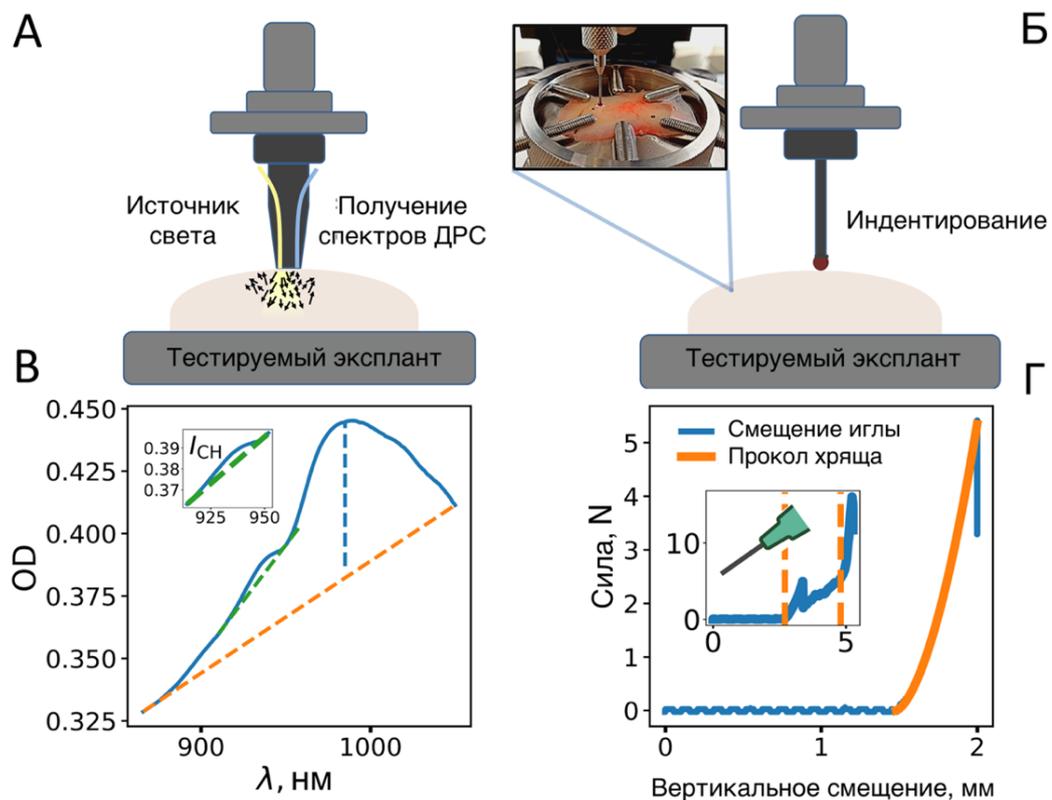


Рисунок 14 – А: схематическое изображение зонда, используемого для определения оптических параметров. Б: схематическое изображение индентора, используемого для определения механических параметров. В: типичный вид эффективного спектра поглощения хрящевой ткани. Г: измерение толщины хряща иглой

Механические измерения с помощью индентора были выполнены после регистрации спектров диффузного отражения (Рисунок 14Б). Для каждой точки вдавливания определяли модуль Юнга и время вязкоупругой релаксации [188].

После картирования в режиме нормального индентирования измеряли толщину хряща в той же точке иглой (Рисунок 14Г). На Рисунке 14Г основной график представляет собой зависимость нагрузки от вертикального смещения индентора. Оранжевая линия показывает аппроксимацию данных моделью Герца. На вставке показан пример одного цикла измерения толщины хряща по графику зависимости силы от вертикального смещения во время проникновения иглы. Оранжевые пунктирные линии соответствуют моменту контакта иглы с поверхностью хряща и моменту контакта иглы с костной тканью при дальнейшем ее проникновении в образец.

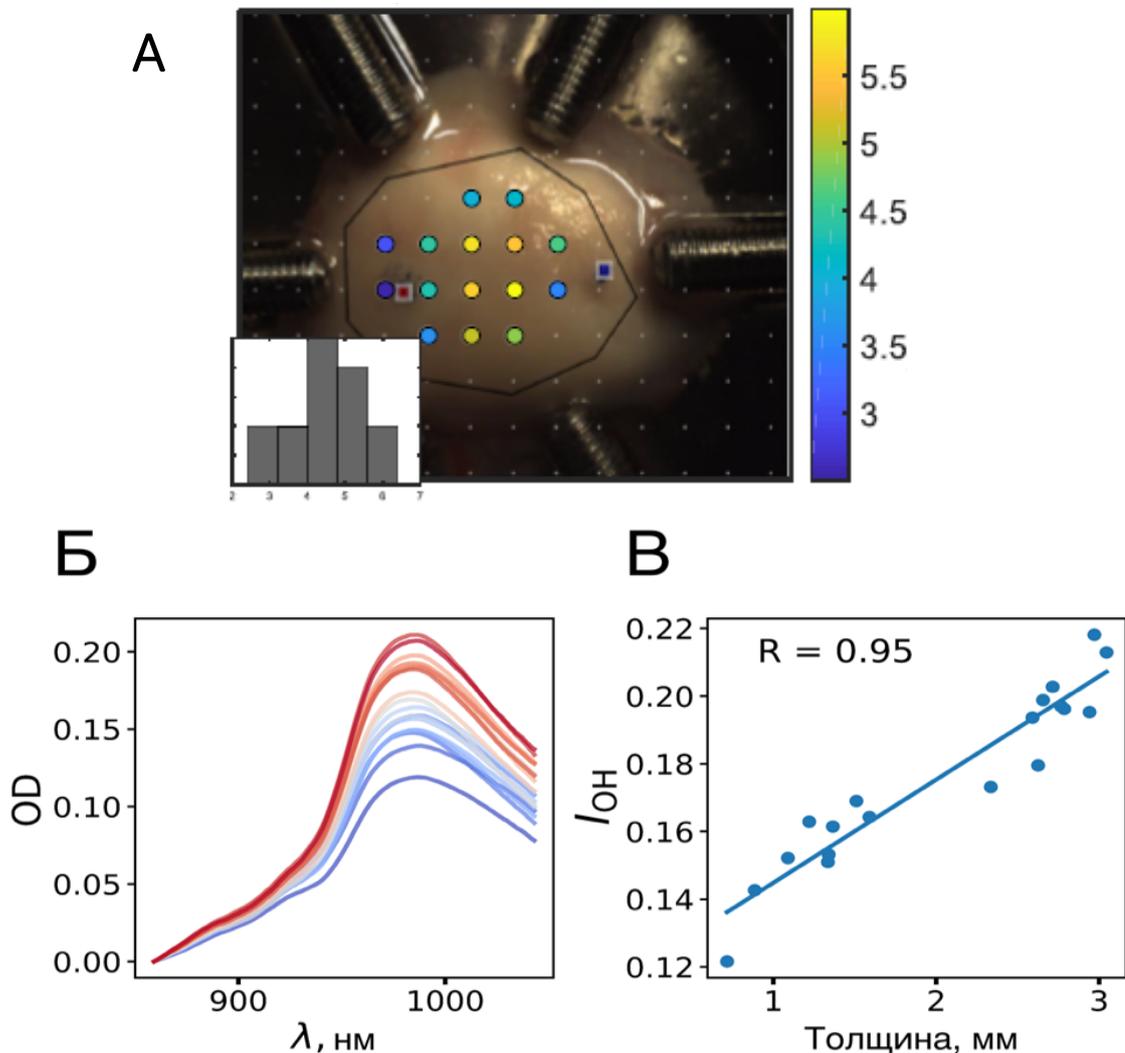


Рисунок 15 – А: картирование толщины хряща. Б: спектры оптической плотности, измеренные в соответствующих точках отображения. В: зависимость индекса воды  $I_{OH}$  от толщины хряща

На Рисунке 15А [137] показан характерный вид исследуемых эксплантов и точки картирования оптических и механических параметров; цвет точки соответствует толщине, измеренной с помощью иглы. Спектры ДРС, полученные для тех же точек, представлены на Рисунке 15Б. Цвет точек и линий на Рисунках 15А, 15Б обозначает толщину хряща. Как видно на Рисунке 15Б, спектры, соответствующие более толстым областям хряща, характеризуются более высокими значениями  $I_{OH}$ . На Рисунке 15В показано, что индекс содержания воды экспланта линейно коррелирует с толщиной хряща (коэффициент корреляции Спирмена:  $R = 0,95$ ). Для объяснения этой зависимости было смоделировано распространение света в структурах, имитирующих измеряемые экспланты.

### **3.6. Моделирование распространения света в хрящах с использованием моделирования Монте-Карло**

Моделирование Монте-Карло используется для изучения распространения света в биологических тканях. Метод описывает локальные правила распространения фотонов, которые выражаются в виде вероятностных распределений, описывающих размер шага движения фотона между участками взаимодействия фотона с тканью и углы отклонения траектории фотона при рассеянии. Моделирование методом Монте-Карло основано на вычислении распространения большого количества фотонов с помощью компьютера [137, 292].

Для оценки влияния структуры экспланта на регистрируемые спектры, в частности, для оценки влияния изменения концентрации воды и толщины хряща на измеряемую амплитуду полосы ОН, моделировали распространение света в двухслойной структуре, имитирующей эксплант. В нормальном хряще можно выделить три слоя, отличающихся укладкой коллагеновых волокон: верхний (тангенциально-поверхностная зона), средний и глубокий слой, примыкающий к субхондральной кости. Все три слоя характеризуются близкими значениями коэффициентов рассеяния и анизотропии, которые, однако, могут изменяться неоднородно при химической и механической деструкции при ОА [63]. Тем не

менее, для упрощения системы использовали приближение хряща с однородной средой, позволяющее получить качественную оценку влияния параметров рассеяния на форму спектров ДРС. В смоделированной двухслойной модели первый слой соответствовал хрящевой ткани (основной полосой поглощения был обертон ОН около 980 нм, концентрация которого составляет 60–90% для здорового хряща), второй слой имитировал опору кости с основной полосой поглощения, представляющей собой обертон СН около 930 нм.

В результате моделирования были рассчитаны эффективные спектры поглощения для схемы регистрации с расстоянием между волокнами источника и детектора 2,5 мм для систем с различной толщиной (0–7 мм) хрящевой ткани и содержанием воды (65–90%) в ней. После этого для моделируемых спектров рассчитывали параметры  $C$ ,  $k$ ,  $I_{OH}$ ,  $I_{CH}$ .

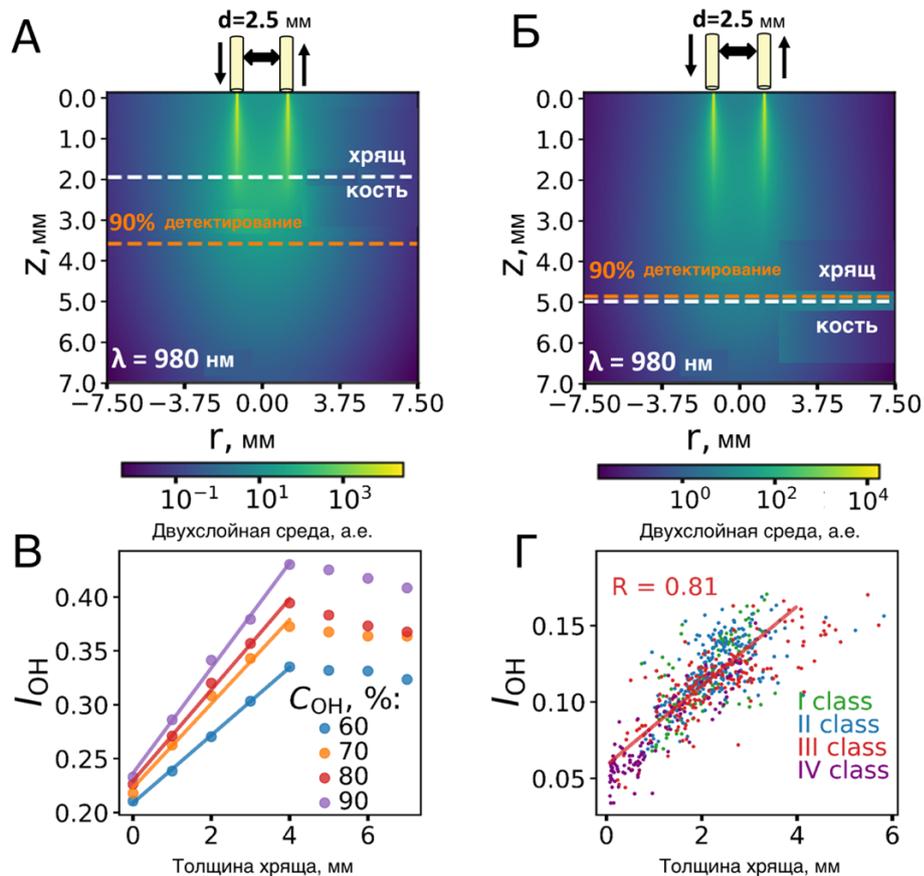


Рисунок 16 – Моделирование методом Монте-Карло. Распределения вероятности обнаружения фотонов для двухслойной системы, представляющей хрящ толщиной 2 мм (А) и 5 мм (Б) над костью. В: зависимость содержания воды  $I_{OH}$  от толщины хряща. Г: экспериментальная зависимость индекса содержания воды  $I_{OH}$  от толщины хряща

На Рисунках 16А и 16Б представлены результаты моделирования распространения света с длиной волны 980 нм в двухслойной структуре с толщиной верхнего (хрящевого) слоя, равной 2 и 5 мм соответственно. Оранжевые пунктирные линии на Рисунках 16А и 16Б указывают глубину обнаружения, то есть глубину, с которой собирается 90% падающего излучения; белая пунктирная линия представляет собой положение границы хрящ-кость. Средняя глубина зондирования для двухволоконного зонда с расстоянием между волокнами 2,5 мм и толщиной хряща 2 мм составляет 3,6 мм, для хряща 5 мм – 4,9 мм. Увеличение глубины обнаружения с увеличением толщины происходит за счет того, что коэффициент рассеяния на порядок выше у кости, и происходит быстрое затухание при достижении светом границы хрящ-кость. Следовательно, при толщине хряща менее 5 мм глубина обнаружения примерно равна толщине верхнего слоя. Таким образом, можно ожидать, что при увеличении толщины хряща до 4–5 мм в этой схеме будет наблюдаться увеличение амплитуды поглощения водного пика. Этот факт подтверждается данными моделирования, представленными на Рисунке 16В.

Индекс  $I_{OH}$ , рассчитанный для модельных спектров, линейно возрастает с толщиной хряща в диапазоне от 0 до 4 мм для всех концентраций воды. Как видно из Рисунков 16А и 16Б, увеличение толщины хряща приводит к уменьшению объемной доли сигнала, детектируемого от кости, что одновременно приводит к уменьшению интенсивности полосы СН для хряща более 4 мм, наблюдается насыщение зависимости  $I_{OH}$  (Рисунок 16В). Это связано с тем, что свет уже не проникает на всю толщину хряща. Рисунок 16В также показывает, что изменение содержания воды также приводит к изменению  $I_{OH}$ . Однако используемая схема измерений не позволяет разделить вклады изменения концентрации и толщины. Можно утверждать, что в эксперименте изменчивость мощности значительно превышает изменчивость содержания воды. Поэтому для простоты можно считать, что рост полосы поглощения ОН свидетельствует, прежде всего, об увеличении толщины хрящевой ткани.

Подобное поведение спектральных параметров наблюдали экспериментально. На Рисунке 16Г показано содержание воды  $I_{OH}$ , определенное

из эффективных спектров поглощения в точках картирования, в зависимости от толщины хрящевой ткани для всех эксплантов ( $n=31$ ). Как видно, существует линейная корреляция  $I_{OH}$  с толщиной хряща в диапазоне от 0 до 4 мм (коэффициент корреляции Спирмена:  $R = 0,81$ ). Рисунок 16Г также показывает, что для хряща, превышающего 4 мм, наблюдается отклонение от линейной зависимости, как предсказано выше. Цвет на Рисунке 16Г показывает степень деградации хряща, определенную для каждой точки по шкале ICRS. Следует отметить, что стадия IV, при которой происходит значительное расщепление и прогрессирующее истончение хряща, характеризуется меньшей толщиной и меньшим содержанием воды. Аналогичным образом, использование выбранной конфигурации зонда ДРС объясняет наблюдаемую линейную зависимость  $I_{CH}$  от толщины хряща. Уменьшение толщины хряща приводит к регистрации оптического сигнала субхондральной кости (Рисунок 16А), что влечет за собой увеличение вклада  $I_{CH}$  в регистрируемый спектр ДРС.

Еще одним важным фактором, который может влиять на оптические свойства хрящевой ткани при модификациях ОА, является изменение структуры коллагеновых волокон. Эти изменения, наряду с изменениями плотности хряща и содержания воды, могут привести к увеличению коэффициента светорассеяния.

Чтобы исследовать влияние параметров рассеяния хряща на форму эффективного спектра поглощения, проводили моделирование методом Монте-Карло, в котором варьировался спектр рассеяния слоя хряща. Смоделированные спектры поглощения для различных приведенных коэффициентов рассеяния  $\mu_s$  представлены на Рисунке 17 [137]. Эффективные спектры поглощения постепенно изменялись с увеличением  $\mu_s$ . В легенде показаны значения приведенного коэффициента рассеяния при 980 нм. Как видно, наблюдаются изменения формы спектра, которые проявляются в изменении наклона базовой линии, проходящей через точки при 850 и 1050 нм и описываемой параметром  $k$ , и изменении среднего уровня базовой линии, который описывается параметром  $C$ . С увеличением рассеяния параметр  $k$  уменьшается. Также можно отметить, что для рассматриваемой модели параметр  $C$  уменьшается с увеличением показателя

рассеяния. Таким образом, изменение параметров  $k$  и  $C$  можно использовать для оценки изменений коэффициента рассеяния хряща. Спектры рассеяния варьируются с помощью масштабного коэффициента  $\alpha$ :  $\mu_{s,i}(\lambda) = \alpha \mu_s(\lambda)$ .

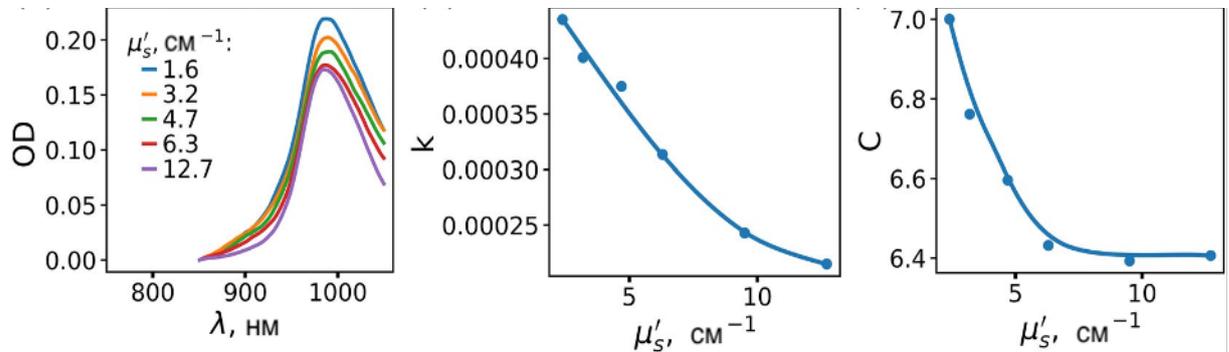


Рисунок 17 – Смоделированные спектры поглощения и параметры  $k$  и  $C$

### 3.7. Корреляция между оптическими и механическими свойствами и степенью повреждения хряща и субхондральной кости. Создание классификатора оптических параметров $I_{OH}$ , $I_{CH}$ , $k$ и $C$

Для оценки потенциала применения ДРС для диагностических нужд был проведен статистический анализ измеренных спектральных характеристик хряща различных классов ICRS, а также корреляция между оптическими и механическими параметрами. Количество измерений для всех степеней составило  $n > 600$ .

Мы наблюдали значительное снижение среднего значения модуля Юнга по шкале ICRS, которое составляет более 80% для степени IV по сравнению со степенью I (Рисунок 18А) [137]. Этот факт отражает размягчение и снижение плотности хрящевого матрикса вследствие прогрессирования ОА. Символы в верхней части диаграмм показывают значения  $p$  для критерия Манна-Уитни для сравниваемых групп. Значения  $p$  для каждого парного теста были скорректированы поправкой Бонферрони ( $p$ -value annotation legend: ns:  $5 \cdot 10^{-2} < p \leq 1$ ; \*:  $10^{-2} < p \leq 5 \cdot 10^{-2}$ ; \*\*:  $10^{-3} < p \leq 10^{-2}$ ; \*\*\*:  $10^{-4} < p \leq 10^{-3}$ ; \*\*\*\*:  $p \leq 10^{-4}$ ). Парный тест между оценками ICRS показывает, что разница модуля Юнга между всеми группами является статистически значимой ( $10^{-4} < P \leq 10^{-3}$ ).

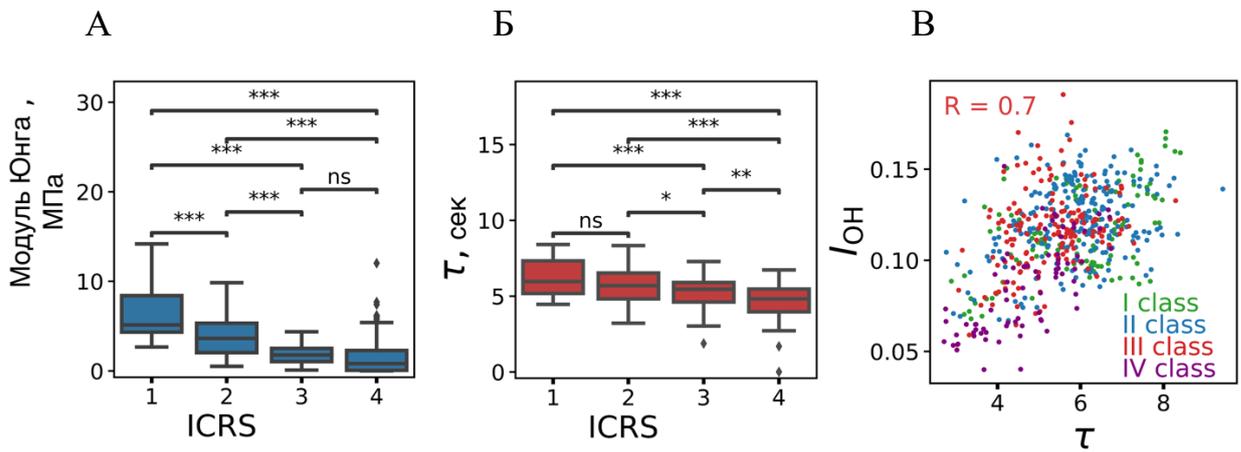


Рисунок 18 – А, Б: зависимость модуля Юнга и времени релаксации  $\tau$  от классификации ICRS. В: зависимость индекса воды  $I_{OH}$  от времени вязкоупругой релаксации  $\tau$  для каждой точки картирования

Исключение составляет статистическая разница между III и IV степенями ( $5 \times 10^{-2} < P \leq 1$ ). Это может быть связано с некорректным применением поправки на конечную толщину для анализа участков экспланта, подверженных сильной деградации и истиранию хрящевой ткани, состоящей преимущественно из костной ткани.

Во время проведения статистического теста были оценены р-значения для времени релаксации  $\tau$  среди степеней ICRS. Наблюдалось среднее снижение  $\tau$  более чем на 40% между стадиями I и IV (Рисунок 18Б). Парный тест в нескольких группах показывает, что разница между I и II степенью поражения хряща статистически недостоверна ( $5 \cdot 10^{-2} < P \leq 1$ ), в то время как парные различия между группами II и III ( $10^{-2} < P \leq 5 \cdot 10^{-2}$ ), III и IV ( $10^{-3} < P \leq 10^{-2}$ ), I и III, I и IV, II и IV ( $10^{-4} < P \leq 10^{-3}$ ) статистически значимы.

При анализе данных была выявлена корреляция между показателем  $I_{OH}$  и временем релаксации  $\tau$  (Рисунок 18В) за счет взаимосвязи формы спектров ДРС с толщиной исследуемого хряща, линейная корреляция наблюдается и для  $I_{CH}$  с  $\tau$  ( $R = 0,7$ ,  $P = 1,810^{-12}$ ); цвет указывает на степень деградации площади образца по шкале ICRS. Следовательно, ДРС можно использовать для неинвазивной оценки механических свойств хряща.

Полученные данные механических и оптических параметров хряща и субхондральной кости для каждой стадии деградации по шкале ICRS были

использованы для создания классификатора оптических параметров  $I_{OH}$ ,  $I_{CH}$ ,  $k$  и  $C$  (Таблица 5).

После создания классификатора оптических параметров на тех же образцах (31 образец, более 600 спектров) был проведен попарный тест параметров спектроскопии по группам ICRS (символами вверху графиков показана значимость  $p$  статистических различий в результате теста Манна-Уитни для рассматриваемых групп). Значения  $p$  для каждого парного теста были скорректированы поправкой Бонферрони ( $p$ -value annotation legend: ns:  $5 \cdot 10^{-2} < p \leq 1$ ; \*:  $10^{-2} < p \leq 5 \cdot 10^{-2}$ ; \*\*:  $10^{-3} < p \leq 10^{-2}$ ; \*\*\*:  $10^{-4} < p \leq 10^{-3}$ ; \*\*\*\*:  $p \leq 10^{-4}$ ) (Рисунок 19) [137].

Таблица 5 – Диапазоны изменений механических и оптических параметров хряща и субхондральной кости. Классификатор оптических параметров  $I_{OH}$ ,  $I_{CH}$ ,  $k$  и  $C$

Стадия ICRS	Механические свойства		Оптические свойства			
	Модуль Юнга, МПа	$\tau$ , сек	$I_{OH} \cdot 10^{-2}$	$I_{CH} \cdot 10^{-2}$	$C \cdot 10^{-1}$	$k \cdot 10^{-4}, \text{нм}^{-1}$
I	$7,1 \pm 3,0$	$5,9 \pm 1,4$	$11,6 \pm 2,4$	$-1,2 \pm 0,5$	$4,2 \pm 0,9$	$6,1 \pm 1,7$
II	$5,1 \pm 2,8$	$5,9 \pm 1,1$	$12,2 \pm 2,1$	$-1,3 \pm 0,5$	$4,7 \pm 1,3$	$5,9 \pm 1,7$
III	$2,7 \pm 2,1$	$5,2 \pm 1,3$	$11,5 \pm 2,3$	$-1,4 \pm 0,7$	$4,9 \pm 1,9$	$5,3 \pm 1,7$
IV	$1,6 \pm 2,1$	$3,5 \pm 2,2$	$8,5 \pm 2,5$	$-0,4 \pm 0,6$	$4,1 \pm 1,5$	$4,0 \pm 1,5$

Чтобы проиллюстрировать возможность реализации данного подхода, для эксплантов хрящевой ткани были построены графики зависимости оптических параметров  $I_{OH}$ ,  $I_{CH}$ ,  $k$ ,  $C$ , как показателей прогрессирования ОА, от стадии ОА по шкале ICRS.

На Рисунке 19 видно, что при переходе от I к II степени ( $I_{OH}^{(I)} = 0,116 \pm 0,024$ ,  $I_{OH}^{(II)} = 0,122 \pm 0,021$ ) наблюдается небольшой рост на 5% среднего значения  $I_{OH}$  с последующим значительным снижением среднего значения параметра ( $I_{OH}^{(III)} = 0,115 \pm 0,023$ ,  $I_{OH}^{(IV)} = 0,085 \pm 0,025$ ). По среднему значению  $I_{CH}$  достоверных различий для I–III степени не наблюдали; однако при IV степени наблюдали резкое увеличение более чем на 30% ( $I_{CH}^{(I)} = -0,012 \pm 0,005$ ,  $I_{CH}^{(IV)} = -0,004 \pm 0,006$ ), связанное со значительным уменьшением объема хряща. Для параметра  $k$  наблюдалось постепенное снижение среднего значения на 35% в зависимости от степени деградации хряща. По показателю  $C$  наблюдали рост среднего значения

при переходе от I степени к III ( $C^{(I)} = 0,042 \pm 0,009$ ,  $C^{(II)} = 0,047 \pm 0,013$ ,  $C^{(III)} = 0,049 \pm 0,019$ ) с последующим снижением для IV степени ( $C^{(IV)} = 0,041 \pm 0,015$ ). Изменение  $k$  и  $C$  в зависимости от степени повреждения хряща может свидетельствовать о разупорядочении коллагена и изменениях рассеивающих свойств, как показано моделированием Монте-Карло.

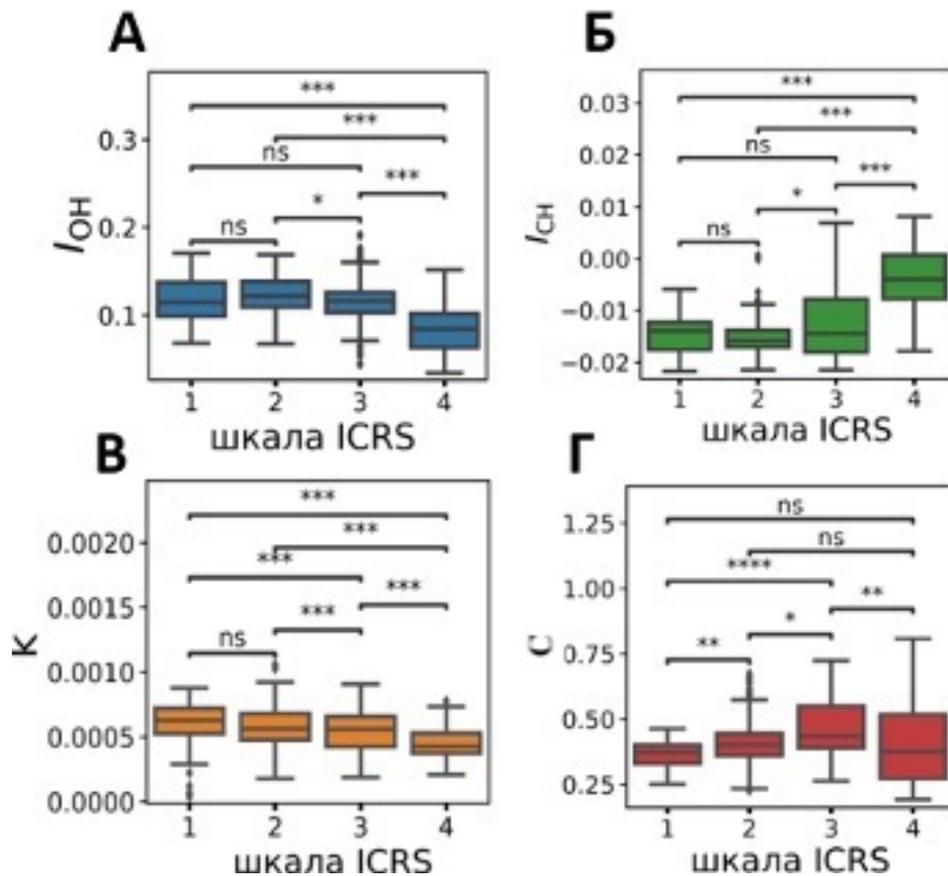


Рисунок 19 – А: относительное сравнение индекса содержания воды  $I_{OH}$  и измеренных спектров ДРС для эксплантов с различной степенью остеоартрита. Б: относительное сравнение индекса содержания СН  $I_{CH}$  и измеренных спектров ДРС для эксплантов. В, Г: относительное сравнение параметров прямой рассеяния  $k$  и  $C$ , определенных в результате анализа измеренных спектров ДРС для эксплантов с различной степенью остеоартрита

Установлено, что определяемые параметры существенно отличаются для различных стадий. Различие между группами I и II является статистически значимыми ( $10^{-3} < p \leq 10^{-2}$ ) при анализе выборок параметра  $C$ . Стадии II и III становится возможным отличить при анализе индекса содержания воды  $I_{OH}$  ( $10^{-2} < p \leq 5 \cdot 10^{-2}$ ),  $I_{CH}$  ( $10^{-2} < p \leq 5 \cdot 10^{-2}$ ), а также  $k$  ( $10^{-4} < p \leq 10^{-3}$ ) и  $C$  ( $10^{-2} < p \leq 5 \cdot 10^{-2}$ ). Отличие групп III и IV является самым ярким и находит

проявление во всех исследуемых параметрах с высоким значением статистической значимости ( $10^{-4} < p \leq 10^{-2}$ ).

От менисков, связок и синовиальной оболочки были также получены спектральные отклики, однако для тканей, отличных от хряща и субхондральной кости, потребуется спектрометр с длиной волны, определяющей содержание других оптических параметров.

Для получения статистически значимых данных потребуется дополнительный спектральный анализ различных типов коллагена и направленности волокон, содержания гликозаминогликанов (хондроитин сульфата) с учетом морфологических особенностей тканей.

### **3.8. Гистологическое исследование**

Для каждой стадии дегенерации хряща в соответствии с классом по шкале ICRS были получены оптические параметры. С целью подтверждения корреляционных взаимосвязей взяли по 6 гистологических образцов для каждой стадии дегенерации по ICRS (Таблица 6) и установили гистологическую степень дегенерации хряща по классификации OARSI. Всего проанализировано 30 гистологических образцов.

Ниже приведены наиболее информативные гистологические образцы.

Гистологические образцы забирали из экспланта (Рисунок 20А), который прежде был картирован для получения оптических параметров. На Рисунке 20Б представлены оптические параметры, полученные от участка патологически неизменного хряща, классифицированного по шкале ICRS как 0 ст.

На Рисунке 20В представлен гистологический образец этого участка, классифицированный по шкале OARSI как интактный здоровый хрящ 0 ст.: поверхность гладкая, кость нормальная, при окраске сафранином поверхностный слой слабо окрашен.

Таблица 6 – Данные визуальной оценки повреждений хряща по классификации ICRS, параметров  $I_{OH} 10^{-2}$ ,  $I_{CH} 10^{-2}$  и гистологической степени по классификации OARSI

Образец	ICRS	$I_{OH} 10^{-2}$	$I_{CH} 10^{-2}$	OARSI
1	1	11,6	-1,0	1,0
2	1	13,1	-1,2	1,5
3	1	12,7	-0,9	1,0
4	1	11,1	-1,2	1,5
5	1	12,9	-1,1	2,0
6	1	11,8	-1,4	1,5
7	2	14,1	-1,3	2,0
8	2	13,8	-0,9	2,5
9	2	12,4	-1,1	3,0
10	2	12,9	-1,3	2,5
11	2	11,7	-1,4	2,5
12	2	12,1	-1,2	2,0
13	3	13,2	-1,0	4,0
14	3	12,2	-1,7	3,5
15	3	9,7	-1,6	4,5
16	3	10,5	-1,4	4,0
17	3	11,5	-1,8	3,5
18	3	11,7	-1,3	4,5
19	4	9,4	-0,5	4,5
20	4	8,7	-0,7	5,5
21	4	7,4	-0,4	5,0
22	4	7,7	-0,8	5,0
23	4	8,5	-0,5	6,0
24	4	9,1	-0,3	5,5
25	0	11,9	-1,1	0,0
26	0	11,8	-1,1	0,0
27	0	12,4	-1,0	1,0
28	0	11,6	-1,3	0,0
29	0	11,7	-1,2	1,0
30	0	13,1	-1,0	0,0

Рисунок 20Г демонстрирует полученные спектры в разных точках измерения от участка 1 ст. по классификации ICRS, а на Рисунках 20Д и 20Е взяты из этой области гистологические образцы.

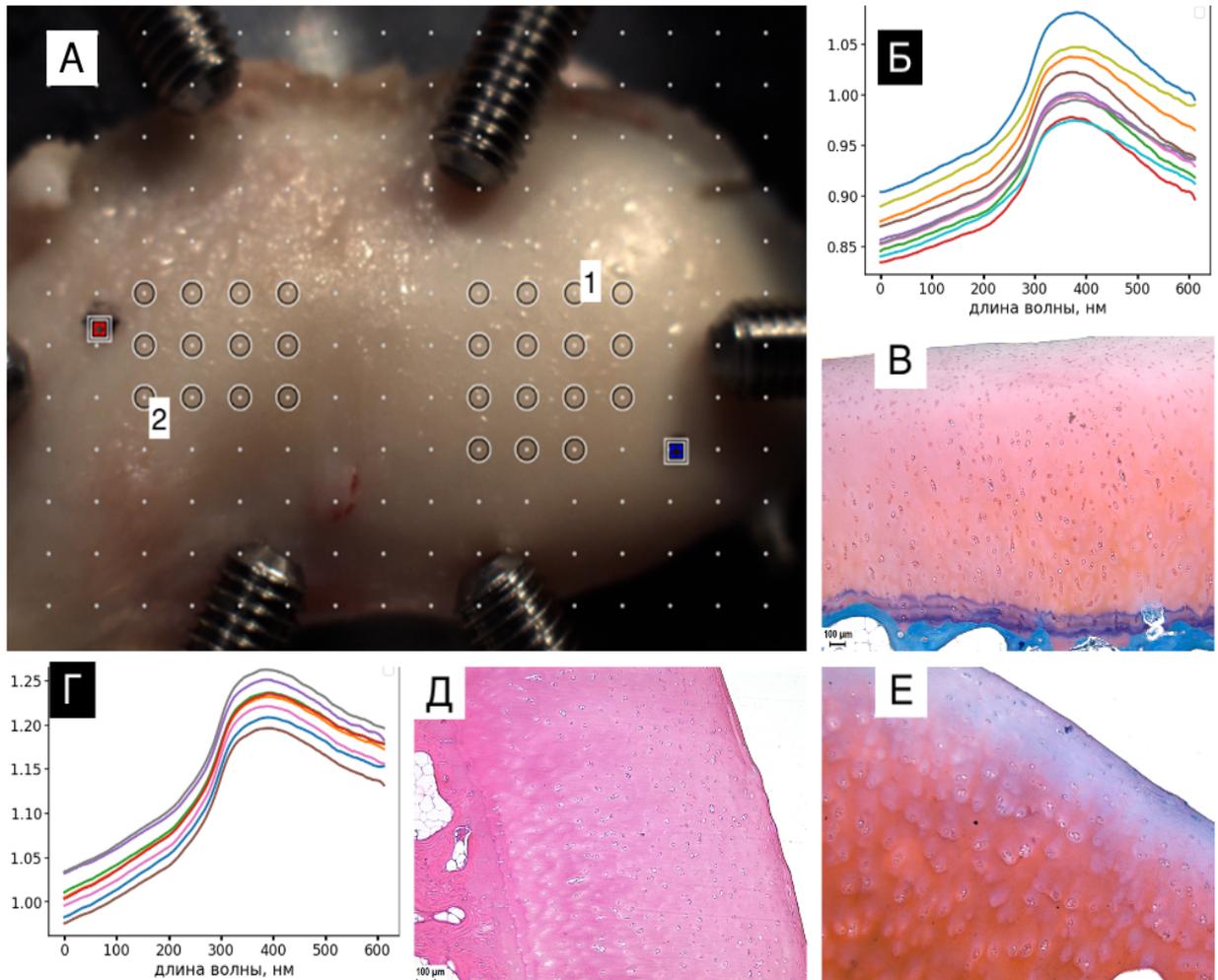


Рисунок 20 – А: картирование экспланта. Цифрами 1 и 2 обозначены точки взятия гистологических образцов. Б: кривые полученных спектров в разных точках измерения от участка 0 ст. по классификации ICRS. В: костно-хрящевая ткань, окраска сафранином (обозначен цифрой 1). Г: кривые полученных спектров в разных точках измерения от участка 1 ст. по ICRS. Д: костно-хрящевая ткань, окраска гематоксилин-эозином (обозначен цифрой 2). Е: костно-хрящевая ткань, окраска сафранином

На Рисунке 20Д наблюдается достаточно толстый слой гиалинового хряща. Поверхность хряща гладкая, сохраняется блестящая пластинка. Хондроциты имеют округлую и/или овальную форму, большинство из них содержат ядра. Четко выражены территориальный и интертерриториальный матрикс. В поверхностном и промежуточном слоях хряща наблюдается умеренная дистрофия хондроцитов: примерно 1/3 из них находится в состоянии кариорексиса и кариолиза, встречаются пустые лакуны и небольшие бесклеточные поля. Глубокий слой хряща нормальной структуры, все хондроциты содержат ядра. При окраске сафранином

интенсивность окраски возрастает при движении вглубь хряща, что свидетельствует о лучшей сохранности именно глубокого слоя и большей концентрации в нем гликозаминогликанов. По классификации OARSI – 1 ст. В субхондральной кости представлены костные трабекулы нормальной толщины и структуры. В глубоких слоях кости на границе взятия биопсии встречаются отдельные очаги деструкции и некроза трабекул, с нарушением тонкой структуры костного матрикса и гибелью остеоцитов. На Рисунке 20Е поверхность хряща гладкая, дистрофия хондроцитов слабая, преимущественно в поверхностном слое. При окраске сафранином поверхностный слой окрашивается метиловым зеленым. OARSI – 1,5.

Гистологические образцы забирали из экспланта (Рисунок 21А), который прежде был картирован для получения оптических параметров. На Рисунке 21Б представлены оптические параметры, полученные от каждой точки измерения оптических параметров экспланта. Взятые гистологические образцы от участка 2 ст. по классификации ICRS представлены на Рисунках 21В–21Е.

На Рисунке 21В представлен толстый слой гиалинового хряща. Наблюдается нарушение целостности блестящей пластинки и поверхностного слоя хряща. Дистрофия и гибель хондроцитов выражены умеренно, определяются бесклеточные поля в поверхностном и глубоком слоях. В глубоком слое встречаются немногочисленные клоны хондроцитов. При окраске сафранином интенсивность окраски возрастает при движении вглубь хряща, что свидетельствует о лучшей сохранности именно глубокого слоя и большей концентрации в нем гликозаминогликанов. Особенностью этого образца можно отметить неравномерность окраски сафранином в глубоком слое хряща, что может свидетельствовать о разной степени выраженности артроза в пограничном участке. По классификации OARSI – 2 ст.

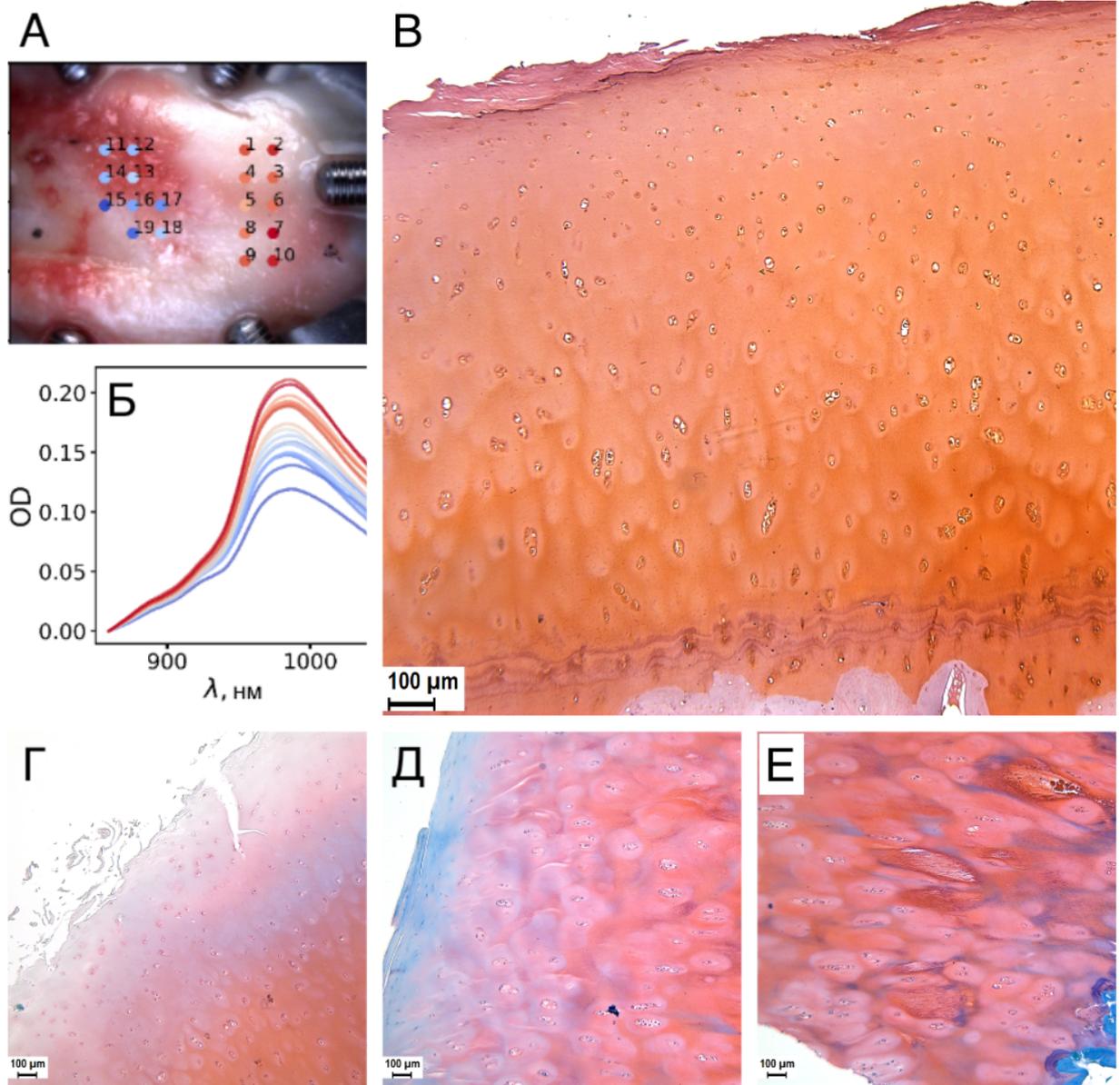


Рисунок 21 – А: картирование экспланта. Точки измерения оптических параметров обозначены цифрами от 1 до 19. Б: кривые полученных спектров в разных точках измерения от участка 2 ст. по классификации ICRS.

В, Г, Д, Е: Костно-хрящевая ткань, окраска сафранином

На Рисунке 21Г поверхность хряща ворсинчатая, в поверхностном слое происходит разволокнение и разрыхление матрикса хряща. Есть неглубокие трещины в поверхностном слое. Дистрофия хондроцитов слабая, преимущественно в поверхностном слое. При окраске сафранином поверхностный слой слабо окрашен (1/3). OARSI – 2,5.

На Рисунках 21Д, 21Е в поверхностном слое происходит разволокнение матрикса хряща и образование неглубоких трещин. Дистрофия хондроцитов

умеренная, значительное количество клонов, преимущественно в глубоком слое. Интертерриториальный матрикс неравномерно окрашивается сафранином. В глубоком слое выраженное разрыхление матрикса и зональная потеря окраски сафранином. OARSI – 3,0.

Гистологические образцы забирали из экспланта (Рисунок 22А), который прежде был картирован для получения оптических параметров. На Рисунке 22Б и Рисунке 22В представлены оптические параметры, полученные от каждой точки измерения оптических параметров экспланта. Взятые гистологические образцы от участков 3–4 ст. по классификации ICRS представлены на Рисунках 22Г–22Е.

На Рисунке 22Г и Рисунке 22Д дистрофия хондроцитов умеренная, значительное количество клонов. В среднем и глубоком слоях хряща отмечается повышенное содержание хондроцитов (пролиферация). Есть глубокие трещины, занимающие 2/3 хряща. При окраске сафранином поверхностный слой слабо окрашен (1/3). OARSI – 3,5.

На Рисунке 22Е хрящ значительно поврежден, поверхностный слой и часть среднего почти полностью отсутствуют. Выраженная дистрофия хондроцитов, значительное количество клонов в глубоком слое. Интертерриториальный матрикс неравномерно окрашивается сафранином. В глубоком слое выраженное разрыхление матрикса и зональная потеря окраски сафранином. OARSI – 4,5.

Гистологическая оценка степени повреждения хряща, проведенная в этой работе, подтвердила классификацию ICRS для всех образцов, включая I стадию ( $p \leq 0,05$ ).

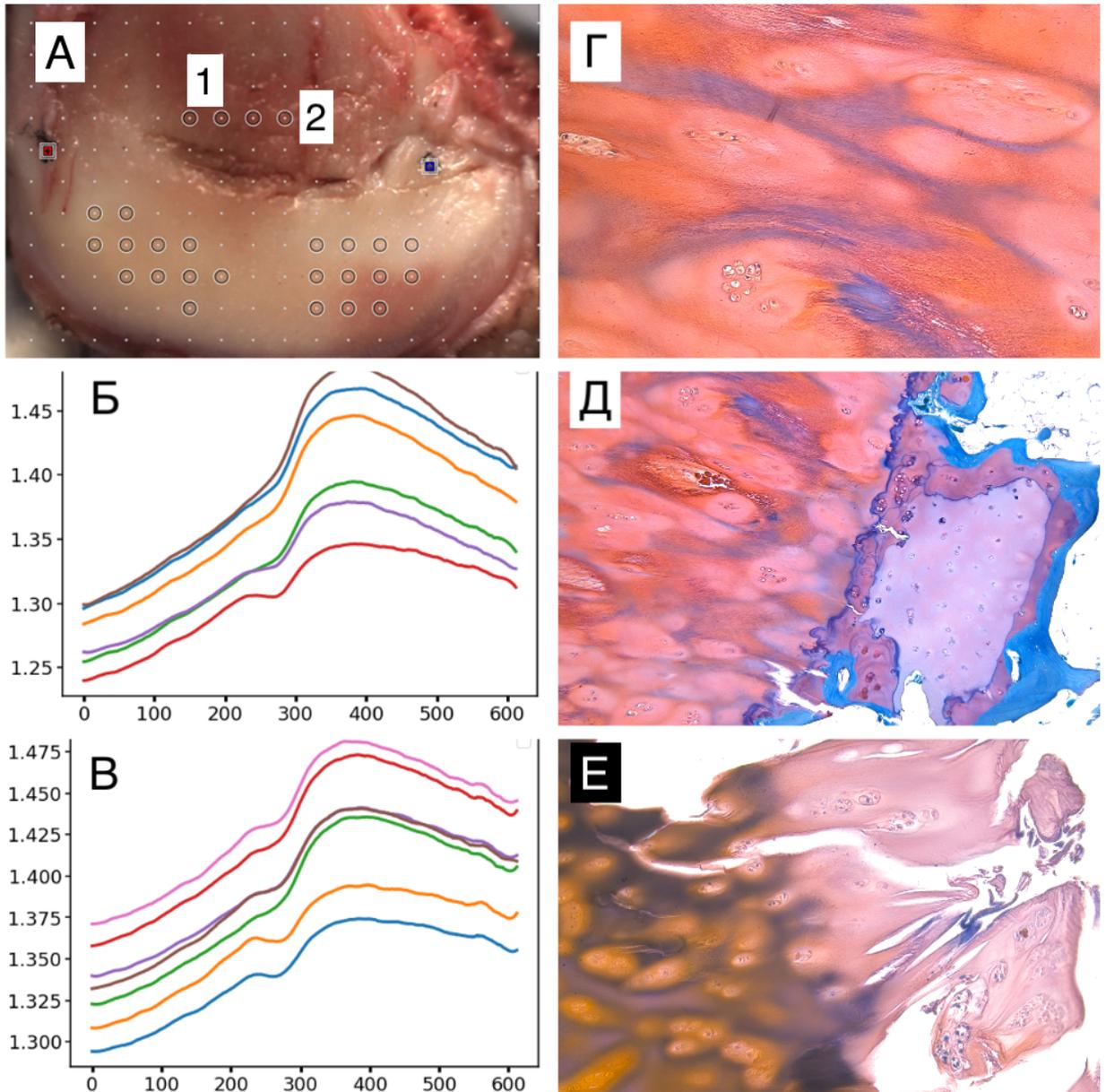


Рисунок 22 – А: картирование экспланта. Цифрами 1 и 2 обозначены точки взятия гистологических образцов. Б, В: кривые полученных спектров в разных точках измерения от участков 3–4 ст. по классификации ICRS.

Г, Д, Е: костно-хрящевая ткань, окраска сафранином

### 3.9. Корреляция между оптическими свойствами и гистологическими характеристиками хряща

Участки 1 ст. по классификации ICRS представлены стадиями 1,0; 1,5; 2,0 по классификации OARSI. Участки 2 ст. по ICRS – 2,0; 2,5; 3,0 стадии по классификации OARSI. 3 ст. ICRS была классифицирована, как 3,5; 4,0; 4,5 стадии по OARSI. И 4 ст. по ICRS соответствовала 4,5; 5,0; 5,5; 6,0 стадиям классификации OARSI (Рисунок 23).

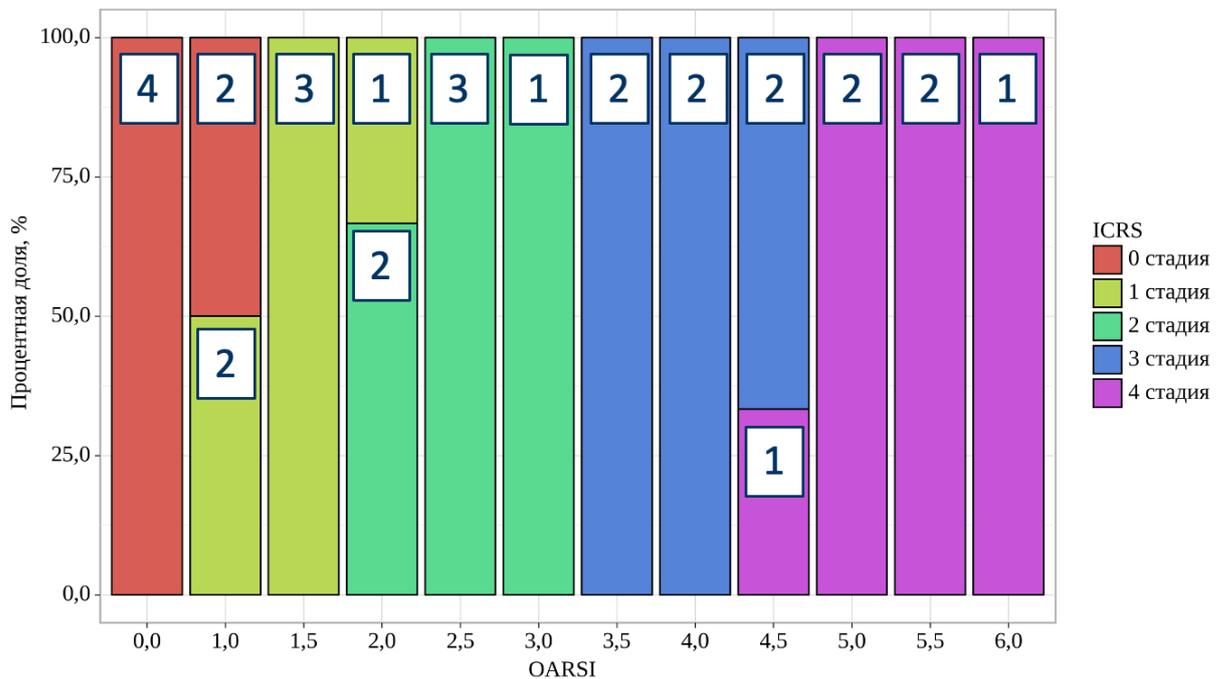


Рисунок 23 – Гистологическая характеристика взятых эксплантов. Цифрой на гистограмме обозначено количество образцов по классификации ICRS

Параметр  $I_{CH} 10^{-2}$  имел нормальное распределение ( $M \pm SD$ , 95% ДИ). Для данных  $I_{OH} 10^{-2}$  нормальное распределение отсутствовало, и данные описывались с помощью медианы ( $Me$ ,  $Q1 - Q3$ ) (Таблица 7).

Таблица 7 – Описательная статистика количественных переменных

Оптические параметры	$M \pm SD / Me$	95% ДИ / $Q1 - Q3$	n	min	max
$I_{OH} 10^{-2}$ , $Me$	11,75	10,65 – 12,62	30	7,40	14,10
$I_{CH} 10^{-2}$ , $M \pm SD$	$-1,09 \pm 0,36$	$-1,22 - -0,96$	30	-1,80	-0,30

Категориальные данные (классификации ICRS и OARSI) описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей (Таблица 8, Таблица 9).

Таблица 8 – Описательная статистика показателя ICRS

Стадия ICRS	Абс.	%	95% ДИ
0	6	20,0	7,7 – 38,6
1	6	20,0	7,7 – 38,6
2	6	20,0	7,7 – 38,6
3	6	20,0	7,7 – 38,6
4	6	20,0	7,7 – 38,6

Таблица 9 – Описательная статистика показателя OARSI

Степень OARSI	Абс.	%	95% ДИ
0	4	13,3	3,8 – 30,7
1,0	4	13,3	3,8 – 30,7
1,5	3	10,0	2,1 – 26,5
2,0	3	10,0	2,1 – 26,5
2,5	3	10,0	2,1 – 26,5
3,0	1	3,3	0,1 – 17,2
3,5	2	6,7	0,8 – 22,1
4,0	2	6,7	0,8 – 22,1
4,5	3	10,0	2,1 – 26,5
5,0	2	6,7	0,8 – 22,1
5,5	2	6,7	0,8 – 22,1
6,0	1	3,3	0,1 – 17,2

Выполнен корреляционный анализ взаимосвязи степени поражения хряща по классификации OARSI и индекса содержания воды  $I_{OH} 10^{-2}$  (Рисунок 24). При оценке связи индекса содержания воды  $I_{OH} 10^{-2}$  и степени поражения хряща по классификации OARSI была установлена заметной тесноты обратная связь ( $p \leq 0,05$ ) (Рисунок 25, Таблица 10). Наблюдаемая зависимость описывается уравнением парной линейной регрессии:

$$Y_{I_{OH} 10^{-2}} = -0,651 \times X_{OARSI} + 13,157.$$

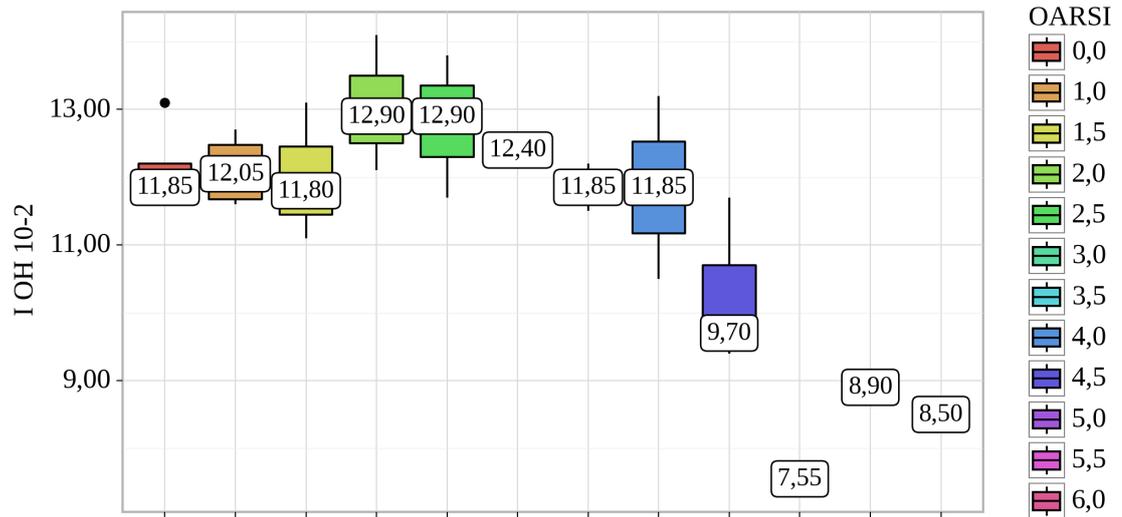


Рисунок 24 – Анализ зависимости индекса содержания воды  $I_{OH} 10^{-2}$  от степени поражения хряща по классификации OARSI

Таблица 10 – Результаты корреляционного анализа взаимосвязи степени поражения хряща по классификации OARSI и индекса содержания воды  $I_{OH} 10^{-2}$

Взаимосвязь показателей	Характеристика корреляционной связи		
	$\rho$	Теснота связи по шкале Чеддока	$p$
OARSI – $I_{OH} 10^{-2}$	-0,535	Заметная	0,002*

\* – различия показателей статистически значимы ( $p < 0,05$ )

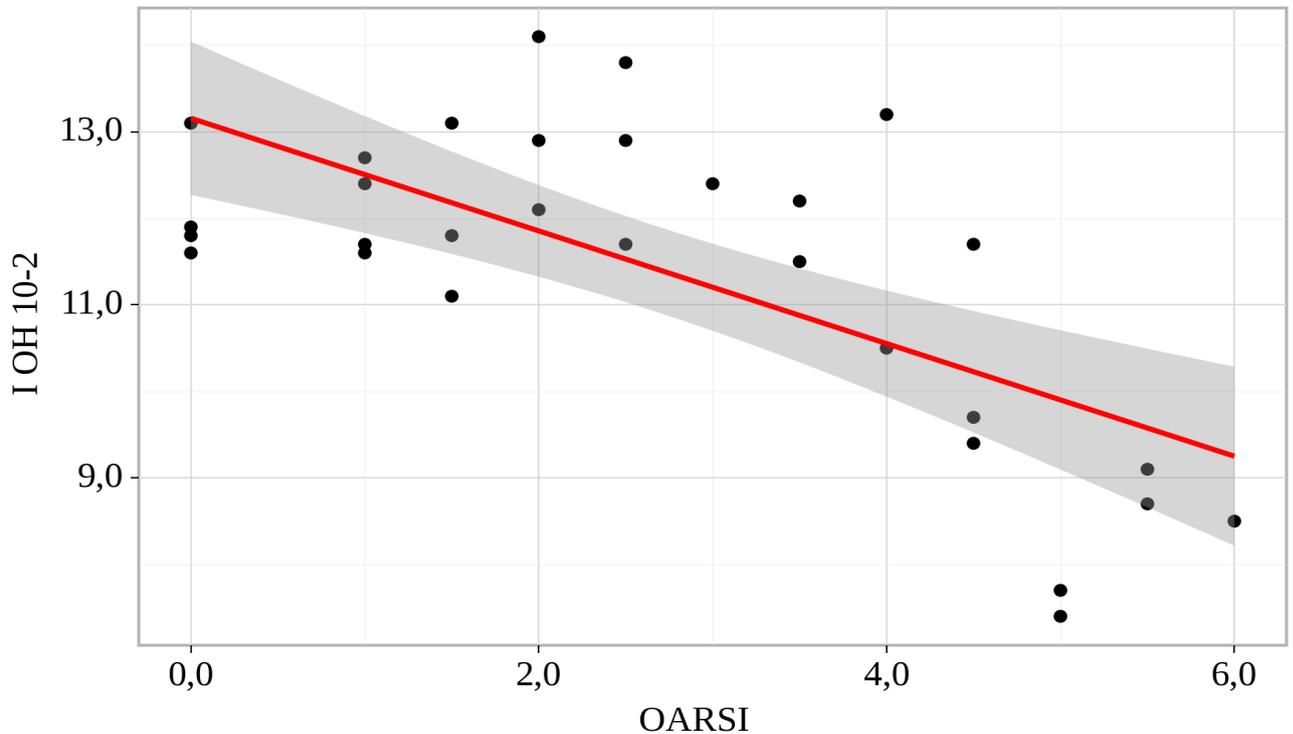


Рисунок 25 – График регрессионной функции, характеризующий зависимость индекса содержания воды  $I_{OH} 10^{-2}$  от степени поражения хряща по классификации OARSI

Нами был выполнен корреляционный анализ взаимосвязи степени поражения хряща по классификации OARSI и индекса содержания СН  $I_{CH} 10^{-2}$  (Рисунок 26). При оценке связи индекса содержания СН  $I_{CH} 10^{-2}$  и степени поражения хряща по классификации OARSI была установлена умеренной тесноты прямая связь ( $p \leq 0,05$ ) (Рисунок 27, Таблица 11). Наблюдаемая зависимость описывается уравнением парной линейной регрессии:

$$Y_{I_{CH} 10^{-2}} = 0,069 \times X_{OARSI} - 1,276.$$

Таблица 11 – Результаты корреляционного анализа взаимосвязи степени поражения хряща по классификации OARSI и индекса содержания СН  $I_{CH}$

Взаимосвязь показателей	Характеристика корреляционной связи		
	$\rho$	Теснота связи по шкале Чеддока	$p$
OARSI – $I_{CH} 10^{-2}$	0,352	Умеренная	0,056

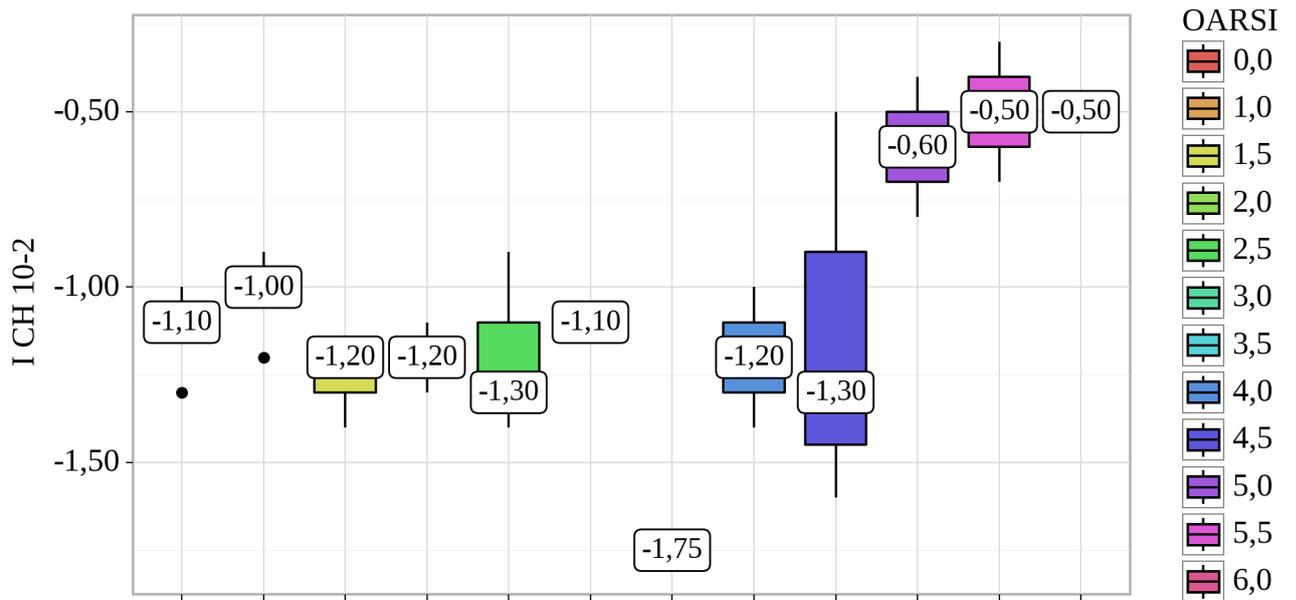


Рисунок 26 – Анализ зависимости индекса содержания СН  $I_{CH} 10^{-2}$  от степени поражения хряща по классификации OARSI

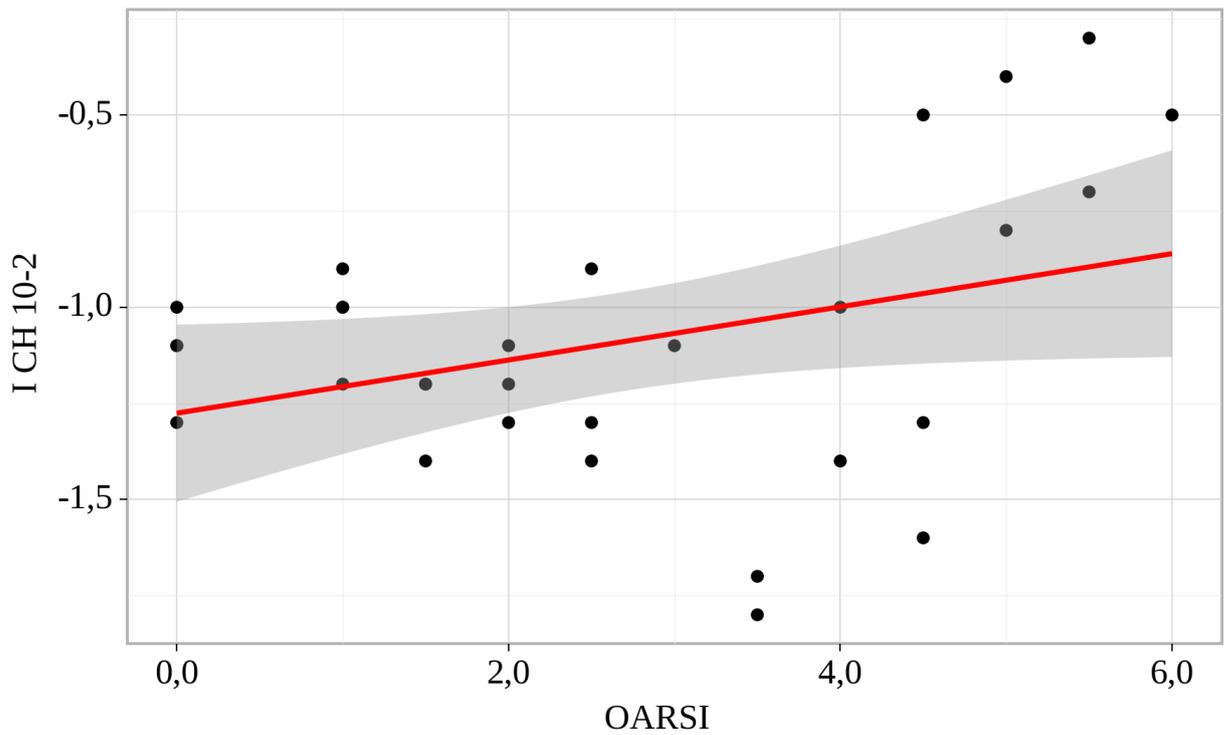


Рисунок 27 – График регрессионной функции, характеризующий зависимость индекса содержания СН  $I_{CH} 10^{-2}$  от степени поражения хряща по классификации OARSI

При выявлении взаимосвязи между степенью дегградации хряща по шкале ICRS и гистологической степенью поражения хряща по классификации OARSI были установлены статистически значимые различия ( $R=0,970$ ,  $p < 0,001$ ) (Рисунок 28).

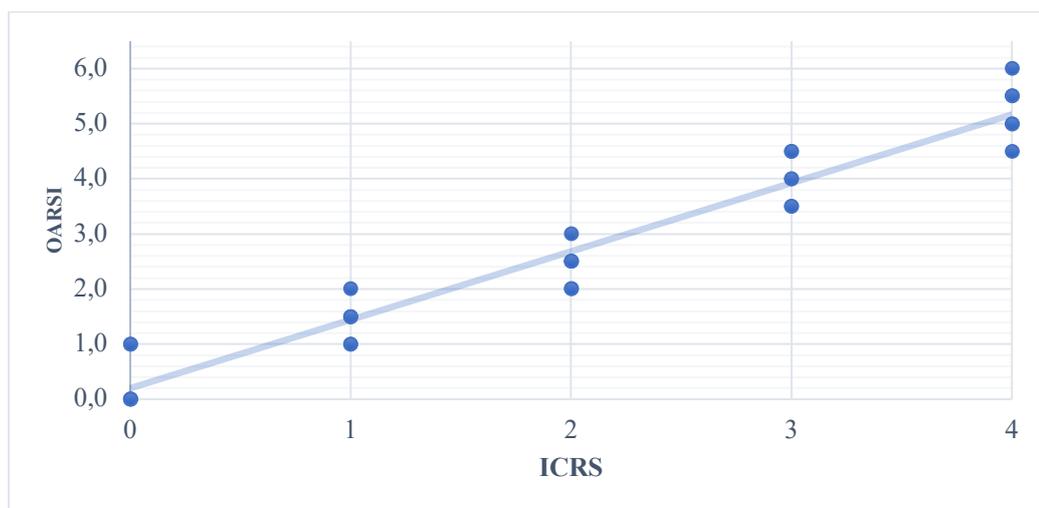


Рисунок 28 – Линейная корреляция классификаций ICRS и OARSI

Использование метода спектроскопии диффузного отражения позволяет получить данные от происходящих на биохимическом уровне изменений.

Получаемые с использованием оптической спектроскопии биохимические параметры и морфологический состав хряща и субхондральной кости представлены на Рисунке 29. Гистологическое исследование подтвердило происходящие на клеточном уровне изменения, а именно гипертрофию хондроцитов и их пролиферацию (Рисунок 29Б). На Рисунке 29В показано, как в результате разрушения структуры коллагеновой сети происходит интенсивное насыщение коллагеновых волокон ОН-группами.

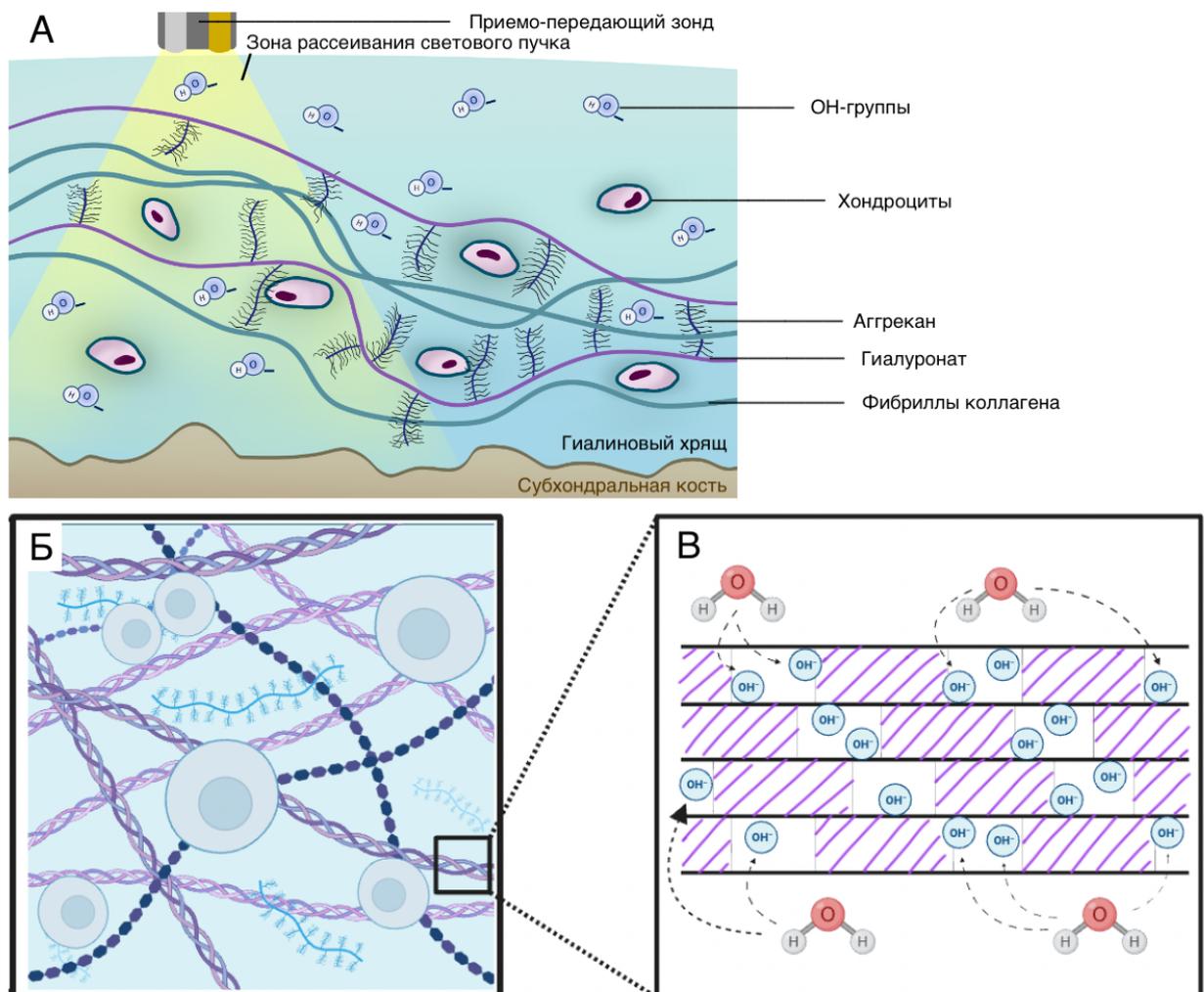


Рисунок 29 – А: гистологическое строение хряща и субхондральной кости. Схема выполнения оптической спектроскопии. Б: строение хряща на молекулярном уровне. В: биохимическая схема механизма деградации хряща на ранних стадиях остеоартрита

### 3.10. Резюме

Экспериментальный этап позволил определить и обосновать возможность исследования состояния интраартикулярных тканей коленного сустава с помощью спектроскопии диффузного отражения. Метод ДРС заключается в определении молекулярных колебаний, а именно химических связей O-H, C-H, N-H и S-H, которые формируют структурный каркас суставного хряща и субхондральной кости.

Были определены количественные характеристики патологических изменений интраартикулярных тканей на основе данных оптической спектроскопии. Полученные оптические параметры  $I_{OH}$ ,  $I_{CH}$ ,  $k$  и  $C$  позволили определить стадию деградации с помощью созданного классификатора и истинные границы патологических изменений хряща.

## ГЛАВА 4. ИНТРАОПЕРАЦИОННОЕ ИЗМЕРЕНИЕ ОПТИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ СУСТАВНОГО ХРЯЦА (ВТОРОЙ ЭТАП)

### 4.1. Методика исследования

Была поставлена задача разработать методику интраоперационного применения спектроскопии диффузного отражения для уточнения состояния интраартикулярных тканей.

Для выполнения интраоперационных измерений разработали приемо-передающий зонд (Рисунок 30) для проведения оптических волокон интраартикулярно.

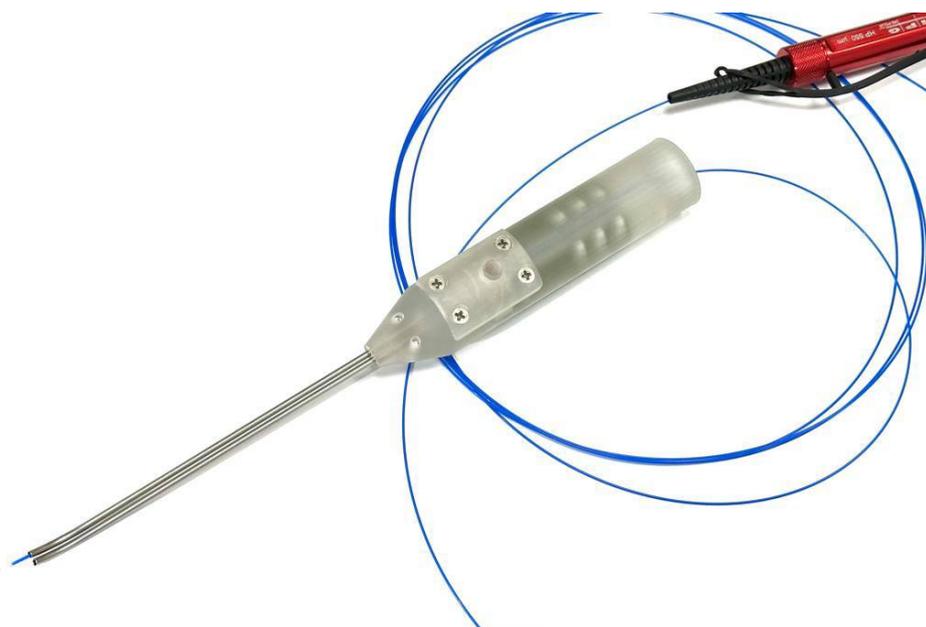


Рисунок 30 – Приемо-передающий зонд



Рисунок 31 – Оптические волокна в составе приемо-передающего зонда

Зонд использовали для регистрации спектров диффузного рассеяния света (ДРС); состоит он из двух оптических волокон (диаметр 550 мкм, числовая апертура 0,22), закрепленных на расстоянии 2,5 мм, регистрируя спектры диффузного рассеяния света в режиме реального времени (Рисунок 31).

Осуществление измерений. В условиях операционной в положении пациента лежа на спине (Рисунок 32) после трехкратной обработки операционного поля растворами антисептиков из передне-медиального и передне-латерального артроскопических доступов (Рисунок 33) суставной хрящ и мениск визуально и пальпаторно артроскопическим крючком оценивали по классификации ICRS.

В качестве источника излучения для метода ДРС использовали вольфрам-галогеновую лампу со сплошным спектром излучения. Регистрацию отклика осуществляли в диапазоне 850–1050 нм оптическими волокнами в составе приемопередающего зонда в режиме реального времени. Перед каждой серией экспериментов измеряли эталонный спектр лампы  $I_{ref}$ , полученный при измерении от стандарта диффузного отражения, а также фоновый спектр  $I_{bg}$ .

В результате измерения спектров ДРС был рассчитан спектр отражения  $R(\lambda)$ :

$$R(\lambda) = \frac{I - I_{bg}}{I_{ref} - I_{bg}}, \quad (1)$$

где  $I$  – спектр сигнала, отраженного от хряща или мениска. Значения оптической плотности в зависимости от длины волны – эффективный спектр поглощения  $OD(\lambda)$  – рассчитывали следующим образом:

$$OD(\lambda) = -\log_{10} (R(\lambda)). \quad (2)$$

Из полученного спектра  $OD(\lambda)$  далее определяли оптические параметры следующим образом:

1. Определяли значение наклона  $k$  ( $\text{нм}^{-1}$ ) и константы  $C$  для прямой, проходящей через точки 850 и 1050 нм спектра  $OD(\lambda)$ , характеризующей рассеяние света в ткани хряща по формулам:

$$k = \frac{OD(1050) - OD(850)}{1050 - 850}, \quad (3)$$

$$C = OD(850), \quad (4)$$

где  $k$  и  $C$  характеризуют рассеяние света в ткани хряща.

2. Данная прямая описывается уравнением

$$y = k(\lambda - 850) + C \quad (5)$$

3. Рассчитывали индекс содержания воды  $I_{OH}$  как высоту спектра  $OD(\lambda)$  над данной прямой на длине волны 980 нм:

$$I_{OH} = OD(980) - (k \cdot (980 - 850) + C); \quad (6)$$

4. Аналогично определяли значение величины  $I_{CH}$  как высоту спектра  $OD(\lambda)$  в точке 930 нм относительно прямой, проходящей через точки 910 нм и 950 нм:

$$I_{CH} = OD(930) - (k_2 \cdot (930 - 910) + C_2), \quad (7)$$

где:

$$k_2 = \frac{OD(950) - OD(910)}{950 - 910}, \quad (8)$$

$$C_2 = OD(910). \quad (9)$$

На основании измерений значения  $I_{OH}$  становится возможным вычислить толщину исследуемого хряща коленного сустава по формуле:

$$d = \frac{(I_{OH} - 0.062)}{0.025} \text{ мм} \quad (10)$$

Полученные результаты заносили в базу данных. Затем с помощью методов машинного обучения обрабатывали полученные данные  $I_{OH}$ ,  $I_{CH}$ ,  $k$ ,  $C$  и  $d$ , и, исходя из полученных данных, диагностировали степень поражения суставного хряща и субхондральной кости коленного сустава.

Предпочтительным вариантом реализации данной модели является модель машинного обучения, основанная на методе C-Support Vector Classification, с помощью которой определялись оптические параметры путем измерения спектров ДРС с использованием зонда.

С помощью спектроскопии диффузного отражения определяли истинные границы патологических изменений (Рисунок 34).



Рисунок 32 – Укладка пациента в операционной в положении лежа на спине



Рисунок 33 – Передне-медиальный и передне-латеральный артроскопические доступы

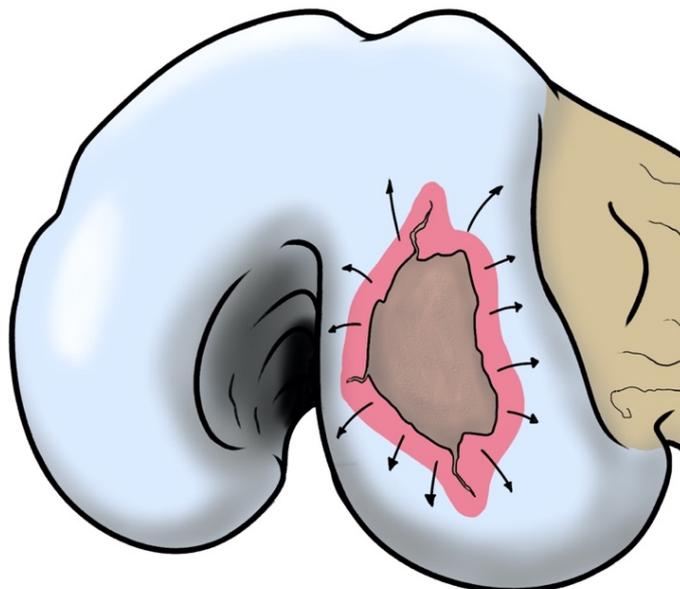


Рисунок 34 – Схема определения истинных границ измерений при полнослойных дефектах – от края дефекта в сторону здорового хряща

#### 4.2. Результаты измерений

##### *Интраоперационные измерения спектров ДРС*

После оценки по классификации ICRS выполняли зондирование поверхности хряща и менисков коленного сустава и регистрацию оптического отклика пациента во время артроскопической операции (Рисунок 35).

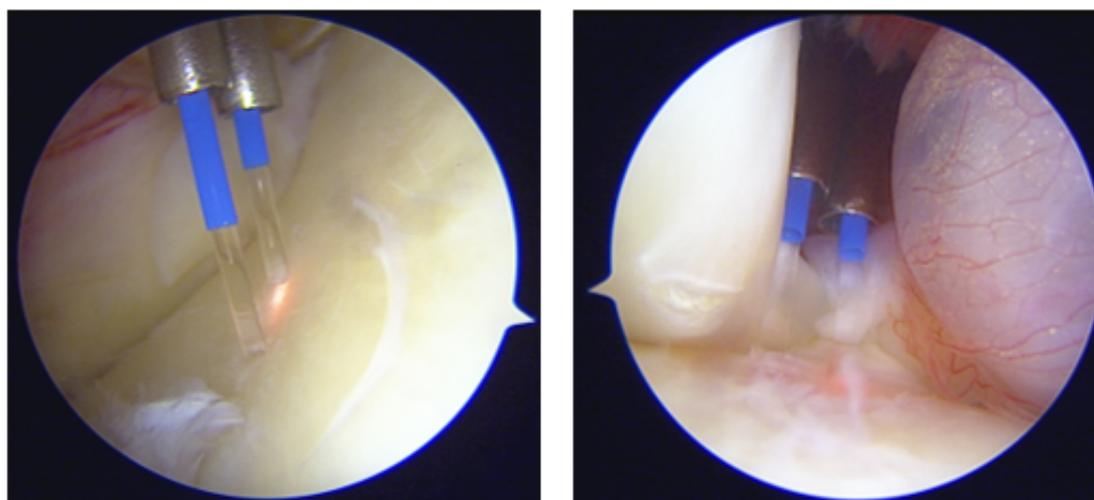


Рисунок 35 – Зондирование хряща и мениска коленного сустава и регистрация оптического отклика тканей пациента во время артроскопической операции

Получали спектры ДРС областей хрящевой ткани (Рисунок 36), оптические параметры  $I_{OH}$ ,  $I_{CH}$ ,  $k$ ,  $C$ . По определенным наборам значений  $I_{OH}$ ,  $I_{CH}$ ,  $k$ ,  $C$  для каждой области *in vivo* определяли стадию деградации хрящевой ткани по шкале ICRS с помощью модели машинного обучения, основанной на методе C-Support Vector Classification.

Определяли толщину хрящевой ткани в каждой области измерения по формуле  $d = \frac{(I_{OH} - 0.062)}{0.025}$  мм с помощью значений параметров  $I_{OH}$  в зависимости от стадии деградации. Данная формула получена в результате анализа статистики (более 600 спектров) и анализа корреляции оптических параметров и толщины хрящевой ткани для каждой точки картирования.

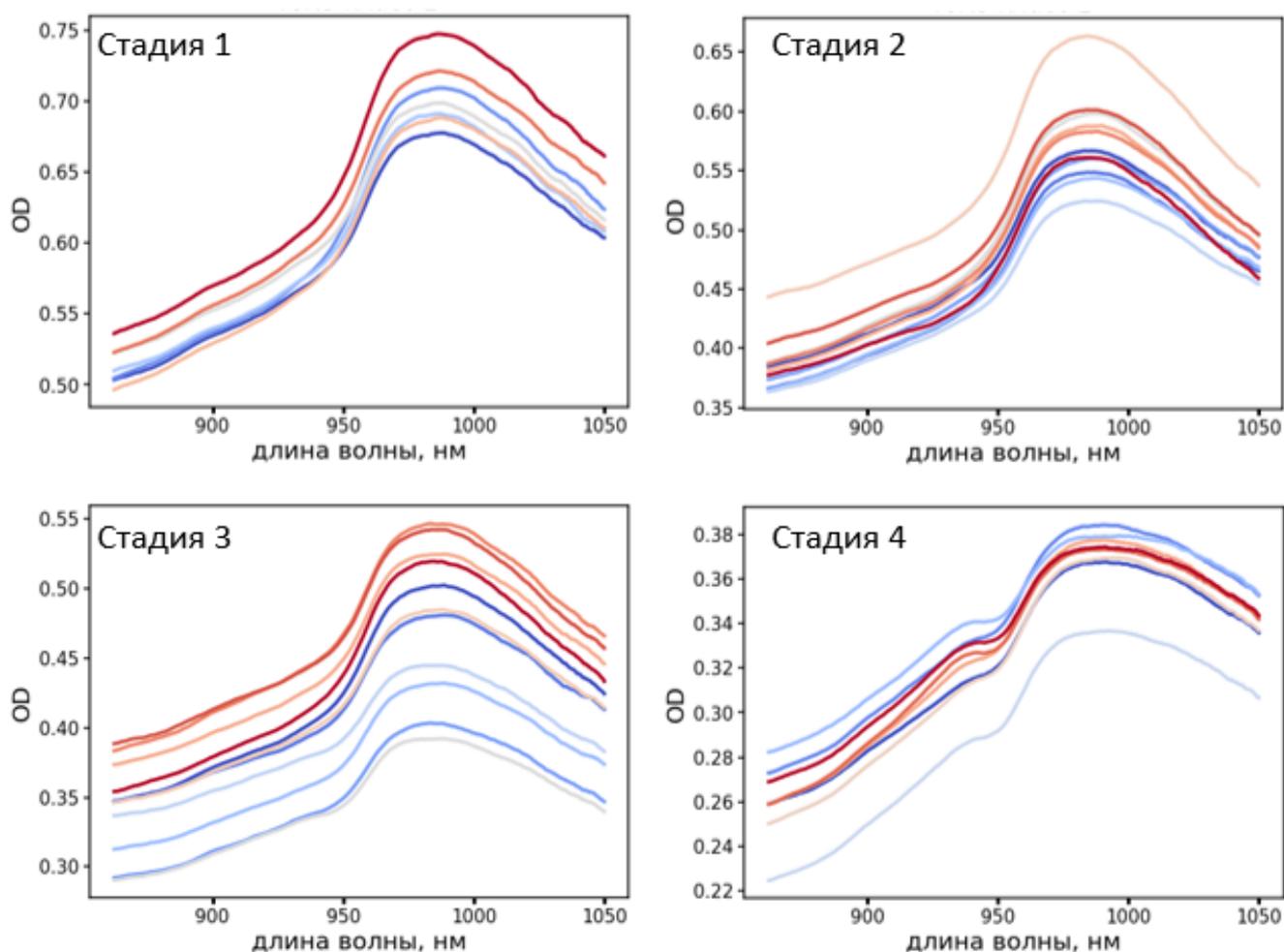


Рисунок 36 – Спектры ДРС областей хрящевой ткани с различной стадией деградации

Применение спектроскопии диффузного отражения в ходе артроскопических вмешательств позволило выявить у 8 из 10 пациентов большую площадь дефекта (по сравнению с данными МРТ) и более тяжелую стадию дегенерации (по сравнению с оценкой хирурга по классификации ICRS), что повлияло на дальнейшую тактику лечения пациентов.

Осложнений в ходе измерения спектров ДРС не было.

Среднее время, затраченное на измерения, составило  $7,6 \pm 2,02$  мин, что существенно не увеличивает время операции, однако позволяет создать диагностическую карту состояния интраартикулярных тканей, на основе которой определить дальнейшую лечебную тактику.

### **4.3. Карта результатов артроскопии коленного сустава**

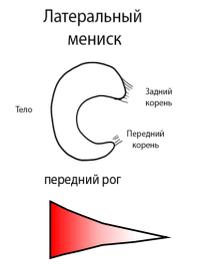
Полученные в ходе артроскопии данные заносились в Карту результатов артроскопии коленного сустава (Рисунок 37). Карта включает в себя раздел с данными о пациенте и оперирующем хирурге, дату операции, диагноз до операции, артроскопические доступы, положение надколенника, подробный артроскопический осмотр коленного сустава, включающий данные о наличии синовиальных складок и повреждении капсулы, локализации и характере повреждения менисков и связок, патологии хряща, а также разработанную Карту оценки дефектов хряща с указанием размеров. Для внесения дополнительной информации имеется раздел Особые отметки и раздел Заключение.

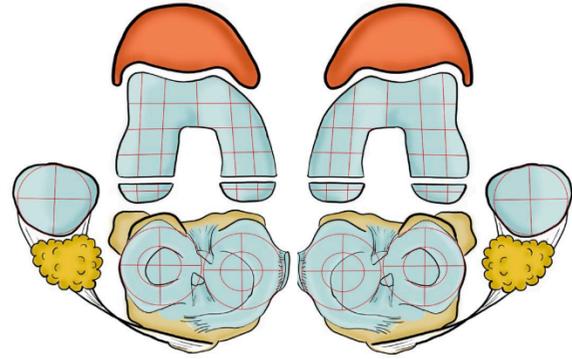
Стадию дегенерации областей интереса и размер дефекта отмечали на Карте оценки дефектов хряща.

Карта результатов артроскопии коленного сустава № \_\_\_\_\_ Дата: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_  
 ФИО хирурга \_\_\_\_\_  
 ФИО пациента \_\_\_\_\_ Дата рождения: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_  
 Диагноз до операции: \_\_\_\_\_

Сустав:  Правый  Левый

Артроскопические доступы:  центральный  переднемедиальный  
 переднелатеральный  верхнемедиальный  верхнелатеральный  дополнительные  
 Положение надколенника:  норма  низкое  высокое

<b>Повреждение капсулы</b> <input type="checkbox"/>		
<b>Повреждение менисков</b>		
<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="radio"/> Полный</li> <li><input type="radio"/> Неполный</li> <li><input type="radio"/> Горизонтальный</li> <li><input type="radio"/> Поперечный (радиальный)</li> <li><input type="radio"/> Продольный (вертикальный)</li> <li><input type="radio"/> Лоскутный</li> <li><input type="radio"/> Разрыв по типу «ручки лейки»</li> <li><input type="radio"/> Дискоидный</li> <li><input type="radio"/> Дегенеративный</li> <li><input type="radio"/> Комбинированный</li> </ul>	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;"> <p>Латеральный мениск</p>  </div> <div style="text-align: center;"> <p>Медиальный мениск</p>  </div> </div>	
	<p><b>Синовиальные складки</b></p> <input type="checkbox"/> Супрапателлярная <input type="checkbox"/> Медиапателлярная <input type="checkbox"/> Инфрапателлярная	
<b>Повреждение связок</b>		
<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="radio"/> МКС: <input type="checkbox"/> полное <input type="checkbox"/> частичное</li> <li><input type="radio"/> ЛКС: <input type="checkbox"/> полное <input type="checkbox"/> частичное</li> <li><input type="radio"/> ПКС: <input type="checkbox"/> полное <input type="checkbox"/> частичное</li> <li><input type="radio"/> ЗКС: <input type="checkbox"/> полное <input type="checkbox"/> частичное</li> <li><b>Трансплантат ПКС:</b>  <input type="checkbox"/> норма <input type="checkbox"/> повреждение</li> <li><b>Трансплантат ЗКС:</b>  <input type="checkbox"/> норма <input type="checkbox"/> повреждение</li> </ul>	<p><b>Локализация</b></p> <input type="checkbox"/> проксимально <input type="checkbox"/> середина <input type="checkbox"/> дистально <input type="checkbox"/> проксимально <input type="checkbox"/> середина <input type="checkbox"/> дистально	
<b>Патология хряща</b>		
<p>Блоковая часть:</p> <input type="checkbox"/> Медиальный отдел <input type="checkbox"/> Центральная часть <input type="checkbox"/> Латеральная часть	<p>Медиальный мыщелок:</p> <input type="checkbox"/> Передняя часть <input type="checkbox"/> Центральная часть <input type="checkbox"/> Задняя часть	<p>Медиальная фасетка надколенника:</p> <input type="checkbox"/> Проксимальная часть <input type="checkbox"/> Дистальная часть

<p>Латеральный мыщелок:</p> <input type="checkbox"/> Передняя часть <input type="checkbox"/> Центральная часть <input type="checkbox"/> Задняя часть	<p>Латеральная фасетка надколенника:</p> <input type="checkbox"/> Проксимальная часть <input type="checkbox"/> Дистальная часть
<b>Карта оценки дефекта хряща</b>	
	
<b>Размер дефекта</b>	

**Особые отметки:**

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

**Заключение:**

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

Рисунок 37 – Карта результатов артроскопии коленного сустава

#### 4.4. Рабочая классификация степени хондропатии

На основании данных оптических параметров хряща и субхондральной кости, полученных в ходе экспериментального и клинического этапов исследования, разработана классификация степени хондропатии.

Классификация представлена двумя степенями и отличается тем, что включает в себя степень, характеризующаяся отсутствием макроскопически заметных дефектов или поверхностным поражением хряща, который не прилегает к субхондральной кости:

- 1А стадия – хрящ жизнеспособен;
- 1Б стадия – жизнеспособность хряща снижена;
- 2А стадия – отслойка нежизнеспособного хряща при визуальной сохранности;
- 2Б стадия – хрящ нежизнеспособен (визуальный дефект хряща).

Таким образом, как при отсутствии хряща (4 ст. по классификации ICRS), так и при отсутствии видимых изменений хряща, определяемых как 0–1 ст. по классификации ICRS, при помощи спектроскопии диффузного отражения можно диагностировать отслойку хряща и его нежизнеспособность.

#### 4.5. Лечебно-диагностический алгоритм

Разработанный *лечебно-диагностический алгоритм* учитывает возможность коррекции хирургической тактики на основании спектроскопических находок (Рисунок 38). Красными стрелками на Рисунке 38 указаны дополнительные возможности диагностики и коррекции интраоперационной тактики, которые представляет наша методика.

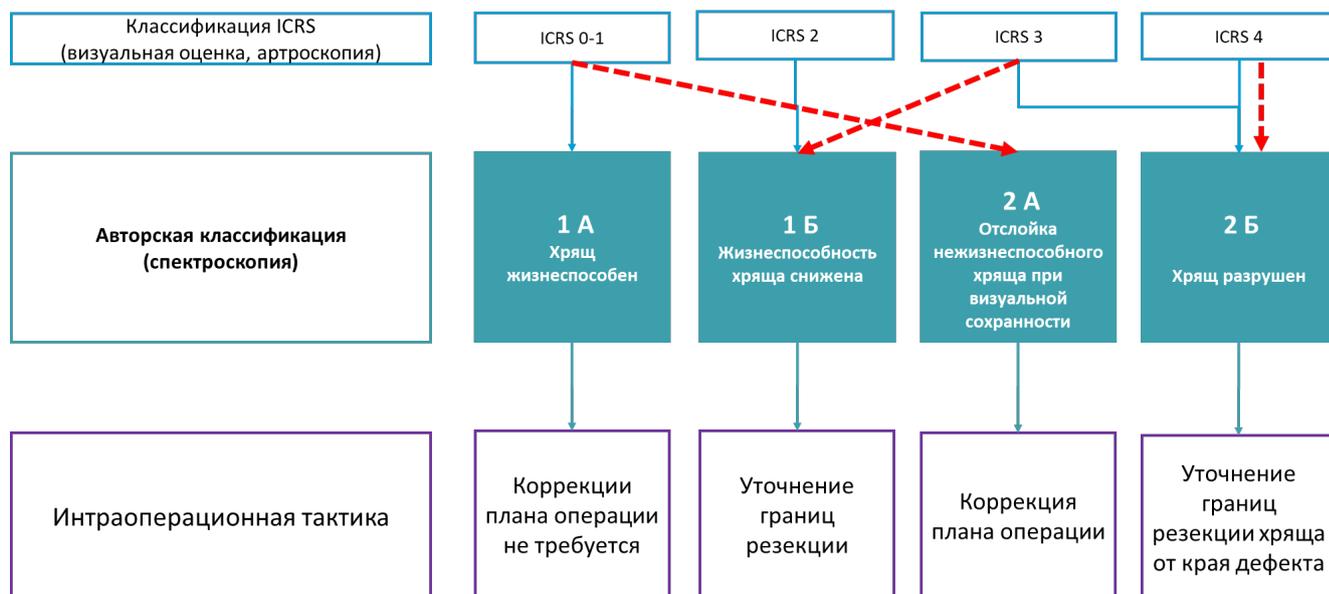


Рисунок 38 – Лечебно-диагностический алгоритм

#### 4.6. Клинические примеры

Выполнена клиническая апробация разработанного способа диагностики интраартикулярных тканей. Методика поясняется клиническими примерами.

##### *Клинический пример 1*

Пациентка Т., 46 лет. Жалобы на боль низкой интенсивности и нестабильность в правом коленном суставе при быстрой ходьбе. В покое боль отсутствует. В анамнезе травма правого коленного сустава при катании на горных лыжах. В течение года после травмы за помощью не обращалась. Консервативно не лечилась. Учитывая сохраняющуюся нестабильность в правом коленном суставе, обратилась к травматологу-ортопеду. Клинически и по данным МРТ выявлен разрыв передней крестообразной связки, гонартроз I ст. Данных за сопутствующую внутрисуставную патологию (по МРТ) нет (Рисунок 39).

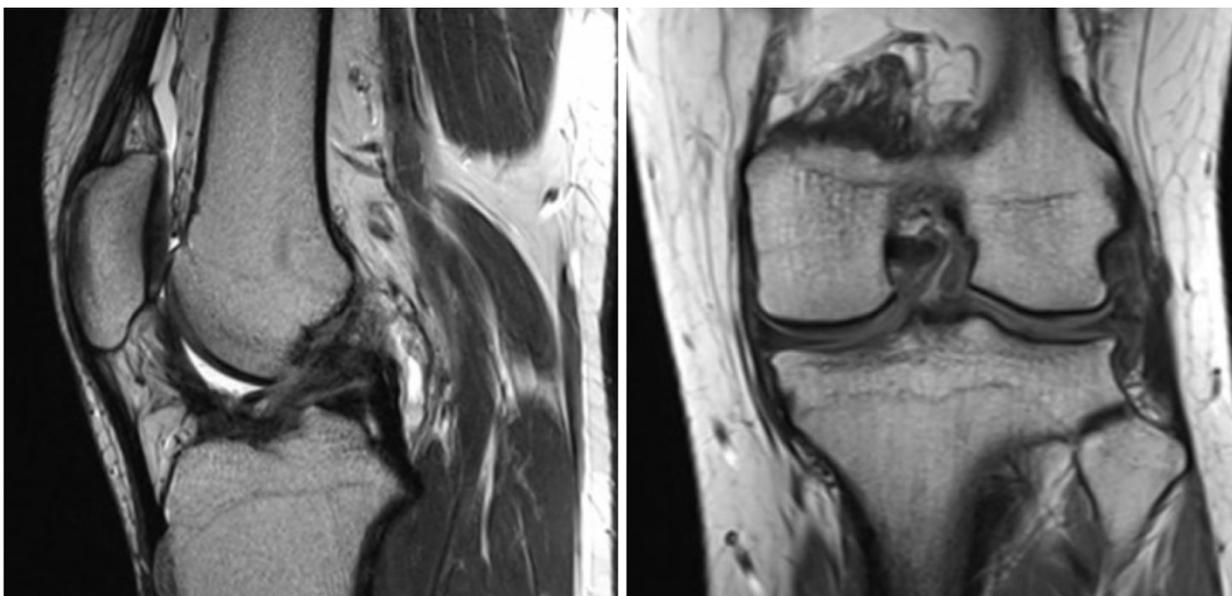


Рисунок 39 – Пациентка Т. МРТ коленного сустава: разрыв передней крестообразной связки правого коленного сустава, гонартроз 1 ст

Пациентка госпитализирована в плановом порядке. Интраоперационно при стандартном осмотре (артроскопическим крючком) подтвержден разрыв передней крестообразной связки, мениски не повреждены. Обнаружена зона размягчения суставного хряща в проекции латерального мыщелка бедра с нечеткими границами, классифицирована по ICRS как 1B степень.

С использованием спектроскопии (Рисунок 40) измерен эталонный спектр источника излучения  $I_{ref}(\lambda)$ , фоновый спектр  $I_{bg}(\lambda)$ , спектр сигнала, отраженного от хряща латерального мыщелка правой бедренной кости,  $I(\lambda)$ , по формуле 1 рассчитаны спектры отражения  $R(\lambda)$  (Рисунок 41). По формуле 2 рассчитан спектр эффективного поглощения  $OD(\lambda)$  (Рисунок 41). По формулам 3 и 4 определен оптический параметр наклона  $k$  (нм<sup>-1</sup>) и константа  $C$ , для прямой, проходящей через точки 850 нм и 1050 нм спектра  $OD(\lambda)$ :

$$k = \frac{0,3625 - 0,2845}{1050 - 850} = 3,899 \cdot 10^{-4}$$

$$C = 0,2845,$$

рассчитан индекс содержания воды  $I_{OH}$  по формуле 6:

$$I_{OH} = 0,3985 - (3,899 \cdot 10^{-4} \cdot (980 - 850) + 0,2845) = 6,33 \cdot 10^{-2}$$

Определены оптические параметры наклона  $k_2$  (нм-1) и константы  $C_2$  для прямой, проходящей через точки 910 нм и 950 нм спектра  $OD(\lambda)$  по формулам 7 и 8:

$$k_2 = \frac{0,3599 - 0,3248}{950 - 910} = 0,88 \cdot 10^{-3}$$

$$C_2 = 0,3248$$

рассчитан индекс  $I_{CH}$  по формуле 9:

$$I_{CH} = 0,3451 - (0,88 \cdot 10^{-3} \cdot (930 - 910) + 0,3248) = 0,28 \cdot 10^{-2},$$

определена толщина  $d$  (мм) хрящевой ткани коленного сустава в области измерения по формуле 10:

$$d = \frac{(0,0633 - 0,062)}{0,025} = 0,05.$$

Полученные параметры свидетельствуют о нежизнеспособности хряща и интерпретируются нами как отслойка хряща. Размер дефекта составил 0,6х0,7 см.

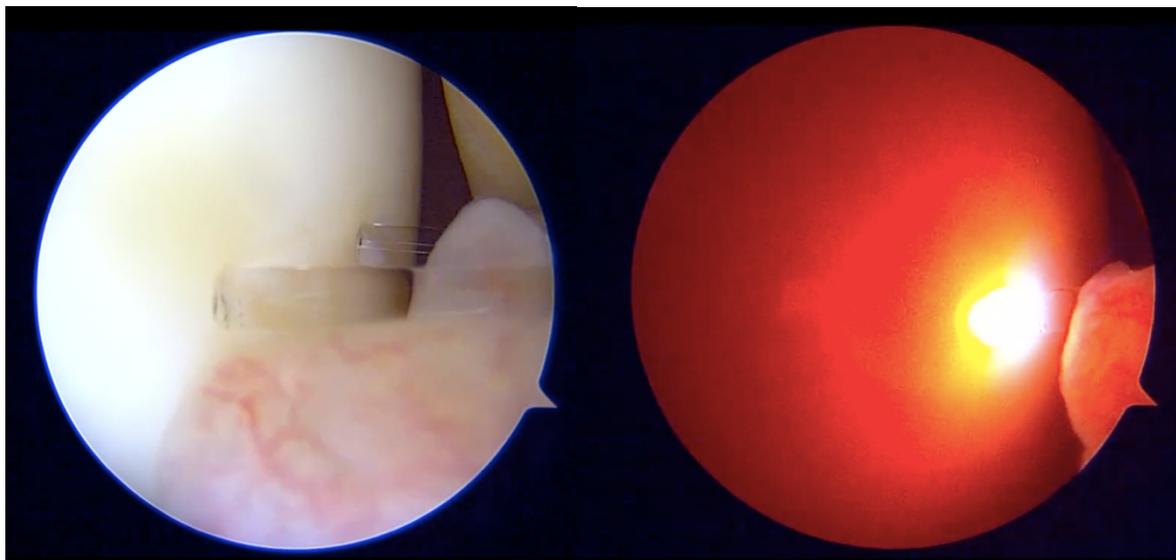


Рисунок 40 – Пациентка Т. Зондирование наружного мыщелка бедра правого коленного сустава, измерение спектров

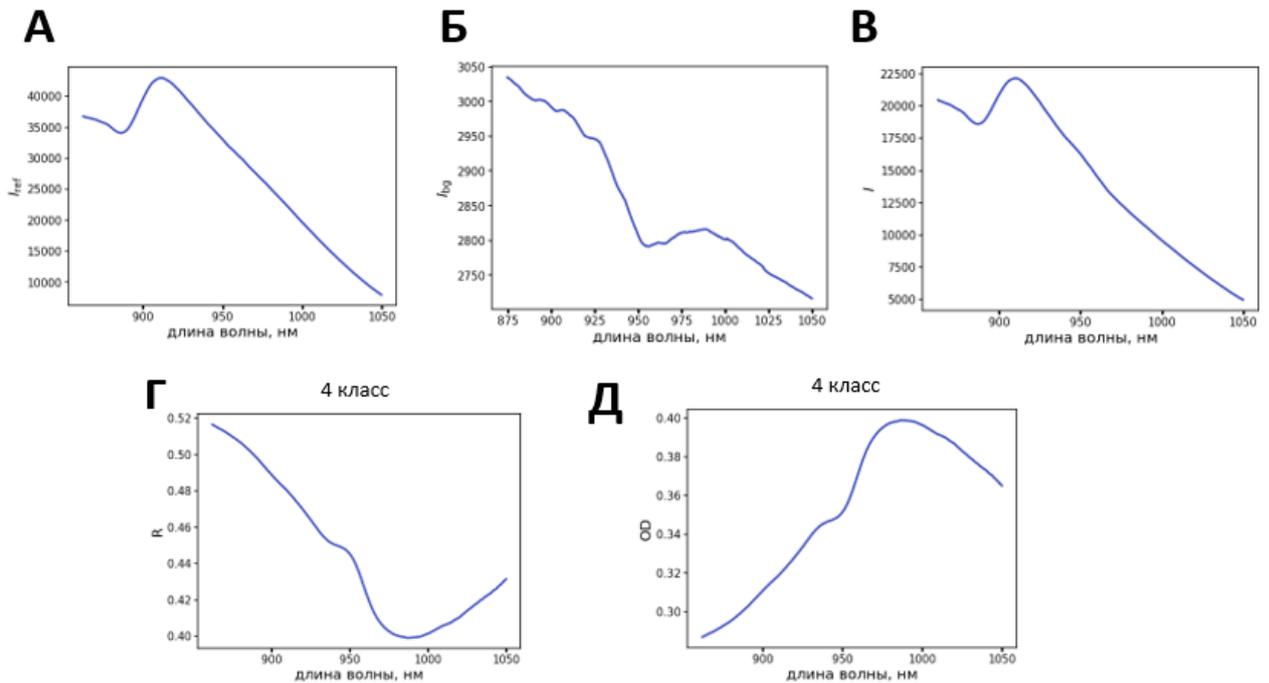


Рисунок 41 – Пациентка Т. Спектры отражения и спектр эффективного поглощения

Были проведены измерения и в соседних к размягченному участку областях. С использованием спектроскопии измерен эталонный спектр источника излучения  $I_{ref}(\lambda)$ , фоновый спектр  $I_{bg}(\lambda)$ , спектр сигнала, отраженного от латерального мышелка бедра,  $I(\lambda)$ , по формуле 1 рассчитаны спектры отражения  $R(\lambda)$  (Рисунок 42). По формуле 2 рассчитан спектр эффективного поглощения  $OD(\lambda)$  (Рисунок 42). По формулам 3 и 4 определен оптический параметр наклона  $k$  (нм<sup>-1</sup>) и константа  $C$ , для прямой, проходящей через точки 850 нм и 1050 нм спектра  $OD(\lambda)$ :

$$k = \frac{0,57 - 0,45}{1050 - 850} = 6 \cdot 10^{-4}$$

$$C = 0,45,$$

рассчитан индекс содержания воды  $I_{OH}$  по формуле 6:

$$I_{OH} = 0,65 - (6 \cdot 10^{-4} \cdot (980 - 850) + 0,45) = 12,2 \cdot 10^{-2}$$

Определены оптические параметры наклона  $k_2$  (нм<sup>-1</sup>) и константы  $C_2$  для прямой, проходящей через точки 910 нм и 950 нм спектра  $OD(\lambda)$  по формулам 7 и 8:

$$k_2 = \frac{0,58 - 0,49}{950 - 910} = 2 \cdot 10^{-3}$$

$$C = 0,49$$

рассчитан индекс  $I_{CH}$  по формуле 9:

$$I_{CH} = 0,52 - (2 \cdot 10^{-3} \cdot (930 - 910) + 0,49) = -1 \cdot 10^{-2},$$

определена толщина  $d$  (мм) хрящевой ткани коленного сустава в области измерения по формуле 10:

$$d = \frac{(0,122 - 0,062)}{0,025} = 2,4,$$

Полученные в соседних участках параметры свидетельствуют о жизнеспособности хряща.

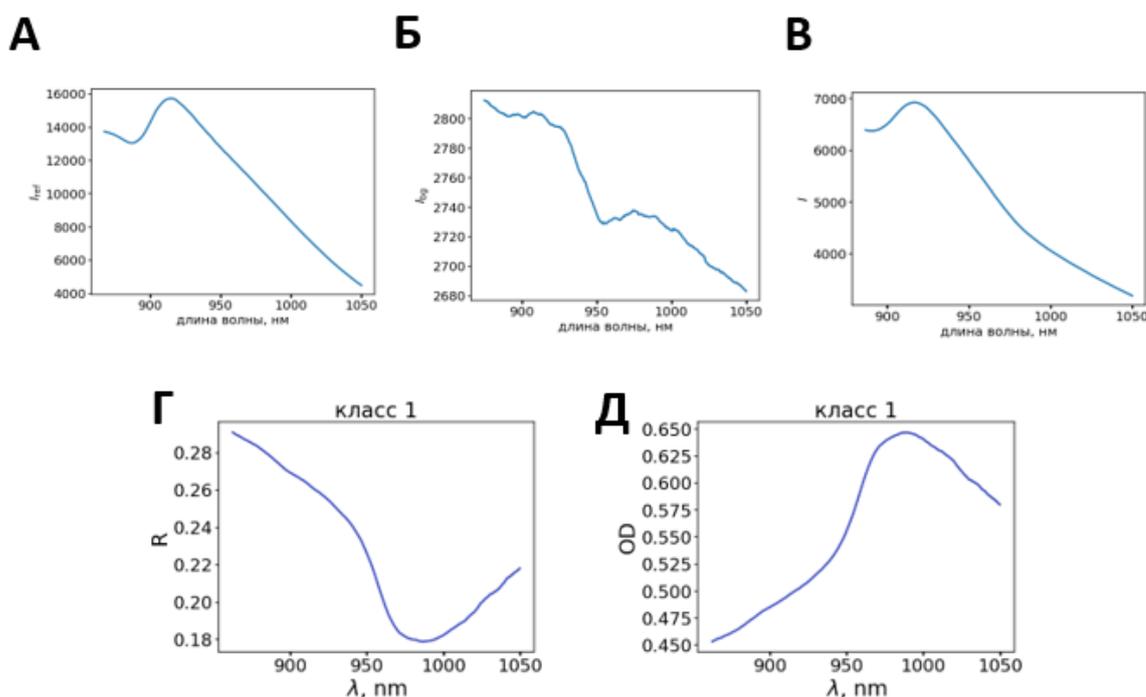


Рисунок 42 – Пациентка Т. Спектры отражения и эффективного поглощения

Время, затраченное на измерение дефекта, составило 8,4 мин.

Заключение: данные спектроскопии латерального мышелка правой бедренной кости соответствуют поражению хряща 2А ст.

Участок деградации и размер дефекта отмечали на карте коленного сустава (Рисунок 43).

Карта результатов артроскопии коленного сустава № 09 Дата: 11.04.22  
 ФИО хирурга Калинский Е.В.  
 ФИО пациента Т. Дата рождения: 1  
 Диагноз до операции: Дефект медиальной части надколенника правого коленного сустава, разрыв ПКС, повреждение ЛС  
 Сустав:  Правый  Левый  
 Артроскопические доступы:  центральный  переднемедиальный  
 переднелатеральный  верхнемедиальный  верхнелатеральный  дополнительные  
 Положение надколенника:  норма  низкое  высокое

Повреждение капсулы <input type="checkbox"/>	
Повреждение менисков	
<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Полный</li> <li><input type="checkbox"/> Неполный</li> <li><input type="checkbox"/> Горизонтальный</li> <li><input type="checkbox"/> Поперечный (радиальный)</li> <li><input type="checkbox"/> Продольный (вертикальный)</li> <li><input type="checkbox"/> Лоскутный</li> <li><input type="checkbox"/> Разрыв по типу «ручки лейки»</li> <li><input type="checkbox"/> Дискоидный</li> <li><input type="checkbox"/> Дегенеративный</li> <li><input type="checkbox"/> Комбинированный</li> <li><input type="checkbox"/> Киста</li> <li><input type="checkbox"/> Кальцификация</li> <li><input type="checkbox"/> Резецированный</li> <li><input type="checkbox"/> Регенерат</li> <li><input type="checkbox"/> Гипермобильность</li> </ul>	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;"> <p>Латеральный мениск</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>Медиальный мениск</p> </div> </div> <p>Синовиальные складки</p> <input type="checkbox"/> Супрапателлярная <input type="checkbox"/> Медиапателлярная <input type="checkbox"/> Инфрапателлярная
Повреждение связок	Локализация
<ul style="list-style-type: none"> <li>○ МКС: <input type="checkbox"/> полное <input type="checkbox"/> частичное</li> <li>○ ЛКС: <input type="checkbox"/> полное <input type="checkbox"/> частичное</li> <li>○ ПКС: <input checked="" type="checkbox"/> полное <input type="checkbox"/> частичное</li> <li>○ ЗКС: <input type="checkbox"/> полное <input type="checkbox"/> частичное</li> <li>○ Трансплантат ПКС: <input type="checkbox"/> норма <input type="checkbox"/> повреждение</li> <li>○ Трансплантат ЗКС: <input type="checkbox"/> норма <input type="checkbox"/> повреждение</li> </ul>	<input type="checkbox"/> проксимально <input type="checkbox"/> середина <input type="checkbox"/> дистально <input type="checkbox"/> проксимально <input type="checkbox"/> середина <input type="checkbox"/> дистально <input checked="" type="checkbox"/> проксимально <input type="checkbox"/> середина <input type="checkbox"/> дистально <input type="checkbox"/> проксимально <input type="checkbox"/> середина <input type="checkbox"/> дистально <input type="checkbox"/> проксимально <input type="checkbox"/> середина <input type="checkbox"/> дистально <input type="checkbox"/> проксимально <input type="checkbox"/> середина <input type="checkbox"/> дистально
Патология хряща	
Блоковая часть: <input type="checkbox"/> Медиальный отдел <input type="checkbox"/> Центральный отдел <input type="checkbox"/> Латеральный отдел	Медиальный мыщелок: <input type="checkbox"/> Передняя часть <input type="checkbox"/> Центральная часть <input type="checkbox"/> Задняя часть
	Медиальная фасетка надколенника: <input type="checkbox"/> Проксимальная часть <input type="checkbox"/> Дистальная часть

Латеральный мыщелок: <input type="checkbox"/> Передняя часть <input checked="" type="checkbox"/> Центральная часть <input type="checkbox"/> Задняя часть	Латеральная фасетка надколенника: <input type="checkbox"/> Проксимальная часть <input type="checkbox"/> Дистальная часть
Карта оценки дефекта хряща	
Размер дефекта 0,6x0,7cm (0,42 см²)	

Особые отметки:  
 По результатам МРТ выявлен разрыв ПКС, повреждение ЛС.  
 При артроскопическом осмотре по классификации ICRS - IV ст.  
 Размер повреждения - 8,4 мм.

Заключение:  
 Формы менисков соответствуют 2А стадии по критериям ICRS - IV ст. повреждение хряща латер. мыщелка правого бедра.

Рисунок 43 – Пациентка Т. Карта оценки дефекта хряща правого коленного сустава

В ходе оперативного вмешательства с учетом полученных данных спектроскопии было принято решение о нежизнеспособности участка хрящевой поверхности бедренной кости площадью 0,42 см<sup>2</sup> и о необходимости выполнения реконструктивной операции со стимуляцией хондрогенеза в пораженной зоне.

Таким образом, данные спектроскопии позволили определить более тяжелую степень дефекта, что принципиально изменило лечебную тактику, повлияло на ход первой операции, предопределило необходимость второй операции и позволило рассчитать необходимое количество клеток для замещения дефекта.

### *Клинический пример 2*

Пациент Н., 36 лет. Жалобы на боль при нагрузке в левом коленном суставе. В покое боль отсутствует. Травмы отрицает, считает себя больным более двух лет. Неоднократно лечился консервативно, с непродолжительным положительным результатом. В течение последних шести месяцев отмечает усиление болевого синдрома, двигательные ограничения в повседневной деятельности.

Обратился за помощью в травматолого-ортопедическое отделение, консультирован травматологом-ортопедом. Учитывая неэффективность неоднократного консервативного лечения, в том числе внутрисуставного введения препаратов гиалуроновой кислоты, рекомендована контрольная рентгенография и МРТ левого коленного сустава. По данным рентгенографии гонартроз II ст. по классификации Kellgren-Lawrence. По данным МРТ – артроз левого коленного сустава 2 ст., локальный дефект хряща медиального мыщелка размером 0,4x0,9 см, дегенеративные изменения внутреннего мениска (Рисунок 44).



Рисунок 44 – Пациент Н. На МРТ левого коленного сустава: дефект хряща медиального мыщелка бедренной кости 0,4x0,9 см

Рекомендована лечебно-диагностическая артроскопия левого коленного сустава. Пациент госпитализирован в плановом порядке. Интраоперационно при стандартном осмотре (артроскопическим крючком) обнаружен разрыв тенла и заднего рога медиального мениска, дефект хряща медиального мыщелка левой бедренной кости размером 0,9x1,6 см не более 50% толщины, границы дефекта нечеткие (Рисунок 45). Степень поражения суставного хряща определена как 2 ст. по классификации ICRS.

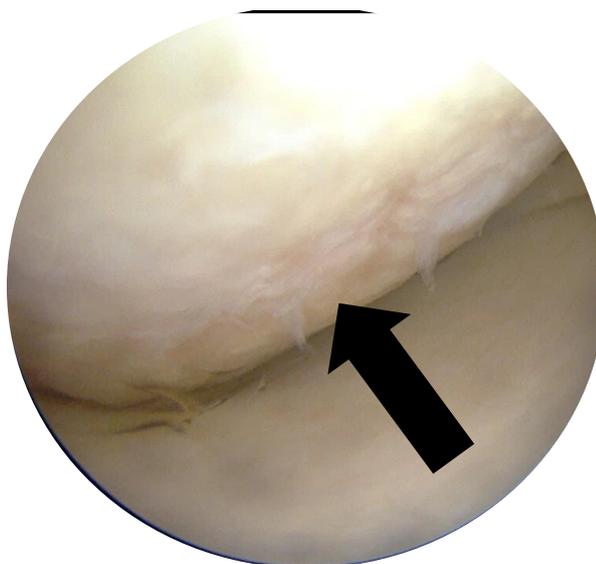


Рисунок 45 – Пациент Н. При артроскопическом осмотре дефект хряща медиального мыщелка левой бедренной кости

С использованием спектроскопии измерен эталонный спектр источника излучения  $I_{ref}(\lambda)$ , фоновый спектр  $I_{bg}(\lambda)$ , спектр сигнала, отраженного от медиального мыщелка бедра,  $I(\lambda)$ , по формуле 1 рассчитаны спектры отражения  $R(\lambda)$  (Рисунок 46). По формуле 2 рассчитан спектр эффективного поглощения  $OD(\lambda)$  (Рисунок 46). По формулам 3 и 4 определен оптический параметр наклона  $k$  (нм-1) и константа  $C$ , для прямой, проходящей через точки 850 нм и 1050 нм спектра  $OD(\lambda)$ :

$$k = \frac{0,6994 - 0,5889}{1050 - 850} = 5,523 \cdot 10^{-4}$$

$$C = 0,5889,$$

рассчитан индекс содержания воды  $I_{OH}$  по формуле 6:

$$I_{OH} = 0,8038 - (5,523 \cdot 10^{-4} \cdot (980 - 850) + 0,5889) = 14,3 \cdot 10^{-2}.$$

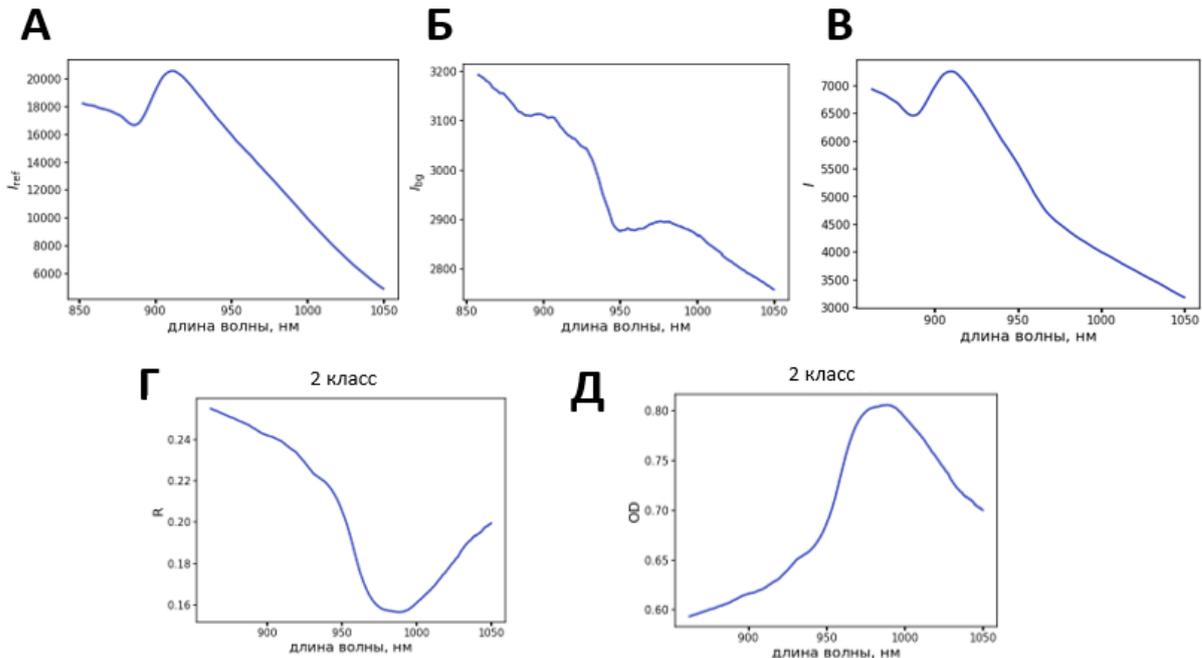


Рисунок 46 – Пациент Н. Спектры отражения и эффективного поглощения

Определены оптические параметры наклона  $k_2$  (нм-1) и константы  $C_2$  для прямой, проходящей через точки 910 нм и 950 нм спектра  $OD(\lambda)$  по формулам 7 и 8:

$$k_2 = \frac{0,7137 - 0,6276}{950 - 910} = 2,15 \cdot 10^{-3}$$

$$C_2 = 0,6276$$

рассчитан индекс  $I_{CH}$  по формуле 9:

$$I_{CH} = 0,6566 - (2,15 \cdot 10^{-3} \cdot (930 - 910) + 0,6276) = -1,4 \cdot 10^{-2} ,$$

определена толщина  $d$  (мм) хрящевой ткани коленного сустава в области измерения по формуле 10:

$$d = \frac{(0,1050 - 0,062)}{0,025} = 1,1 .$$

Время, затраченное на измерение дефекта, составило 7,1 мин.

Полученные параметры свидетельствуют о сомнительной жизнеспособности хряща. Размер дефекта составил 1,4x2,4 см.

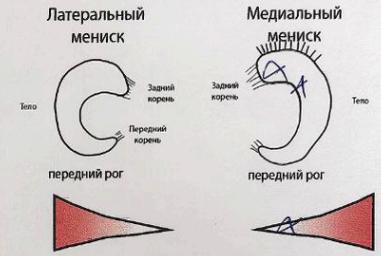
Заключение: данные спектроскопии медиального мыщелка левой бедренной кости соответствуют поражению хряща 1Б ст.

Участок дегенерации и размер дефекта отмечали на карте коленного сустава (Рисунок 47).

Таким образом, клинический пример продемонстрировал, что данные спектроскопии позволили определить точные границы дефекта, площадь которого была более чем в 2 раза больше, чем при артроскопическом осмотре, и в 9 раз больше, чем по данным МРТ.

Внесение изменений в план операции не потребовалось, однако, определение точных границ патологических изменений позволило понять хирургу объем выполняемой туннелизации.

Карта результатов артроскопии коленного сустава № 03 Дата: 21.12.2022  
 ФИО хирурга Петров П.И.  
 ФИО пациента Н. Дата рождения:           /          /            
 Диагноз до операции: Выявлен разрыв переднего рога мениска левого коленного сустава. Гонартроз II ст.  
 Сустав:  Правый  Левый  
 Артроскопические доступы:  центральный  переднемедиальный  
 переднелатеральный  верхнемедиальный  верхнелатеральный  дополнительные  
 Положение надколенника:  норма  низкое  высокое

Повреждение капсулы <input type="checkbox"/> Повреждение менисков		Латеральный мениск Медиальный мениск 
<input type="radio"/> Полный <input checked="" type="radio"/> Неполный <input checked="" type="radio"/> Горизонтальный <input type="radio"/> Поперечный (радиальный) <input type="radio"/> Продольный (вертикальный) <input type="radio"/> Лоскутный <input type="radio"/> Разрыв по типу «ручки лейки» <input type="radio"/> Дискоидный <input checked="" type="radio"/> Дегенеративный <input type="radio"/> Комбинированный		
<input type="radio"/> Киста <input type="radio"/> Кальцификация <input type="radio"/> Резецированный <input type="radio"/> Регенерат <input type="radio"/> Гипермобильность		Синовиальные складки <input type="checkbox"/> Супрапателлярная <input type="checkbox"/> Медиопателлярная <input type="checkbox"/> Инфрапателлярная
Повреждение связок <input type="radio"/> МКС: <input type="checkbox"/> полное <input type="checkbox"/> частичное <input type="radio"/> ЛКС: <input type="checkbox"/> полное <input type="checkbox"/> частичное <input type="radio"/> ПКС: <input type="checkbox"/> полное <input type="checkbox"/> частичное <input type="radio"/> ЗКС: <input type="checkbox"/> полное <input type="checkbox"/> частичное <input type="checkbox"/> Трансплантат ПКС: <input type="checkbox"/> норма <input type="checkbox"/> повреждение <input type="checkbox"/> Трансплантат ЗКС: <input type="checkbox"/> норма <input type="checkbox"/> повреждение	Локализация <input type="checkbox"/> проксимально <input type="checkbox"/> середина <input type="checkbox"/> дистально <input type="checkbox"/> проксимально <input type="checkbox"/> середина <input type="checkbox"/> дистально	
Патология хряща Блоковая часть: <input type="checkbox"/> Медиальный отдел <input type="checkbox"/> Центральный отдел <input type="checkbox"/> Латеральный отдел		
Медиальный мыщелок: <input type="checkbox"/> Передняя часть <input checked="" type="checkbox"/> Центральная часть <input type="checkbox"/> Задняя часть		
Медиальная фасетка надколенника: <input type="checkbox"/> Проксимальная часть <input type="checkbox"/> Дистальная часть		

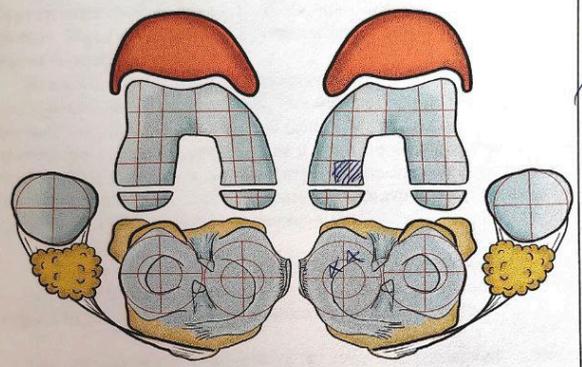
Латеральный мыщелок: <input type="checkbox"/> Передняя часть <input type="checkbox"/> Центральная часть <input type="checkbox"/> Задняя часть	Латеральная фасетка надколенника: <input type="checkbox"/> Проксимальная часть <input type="checkbox"/> Дистальная часть	
Карта оценки дефекта хряща		Размер дефекта 1,4 x 2,4 см (3,36 см <sup>2</sup> )
		
Особые отметки: По данным МРТ размер дефекта 0,4 x 0,8 см; при артроскопической оценке - 0,8 x 1,6 см. По классификации ICRS - 2 ст. Время измерения 7,1 мин.		
Заключение: Данные артроскопии соответствуют 1Б стадии поражения хряща медиального мыщелка левого бедра.		

Рисунок 47 – Пациент Н. Карта оценки дефекта хряща левого коленного сустава

### *Клинический пример 3*

Пациентка Е., 34 года. Жалобы на боль в области правого коленного сустава в покое, усиливающуюся при ходьбе и подъеме по лестнице. Объем движений полный. В анамнезе – в 2018 году реконструкция mPFL по поводу рецидивирующего вывиха правого надколенника. Отмечает постепенное усиление болевого синдрома с конца 2019 года по настоящее время.

Обратилась за помощью в травматолого-ортопедическое отделение, консультирована травматологом-ортопедом. Рекомендована МРТ правого коленного сустава. По данным МРТ: послеоперационные изменения (имплантаты после реконструкции mPFL). Признаки гонартроза 2 ст., костно-хрящевой дефект латерального мыщелка бедра размером 1,0x1,4 см, признаки субхондрального отека в области латерального мыщелка (Рисунок 48).

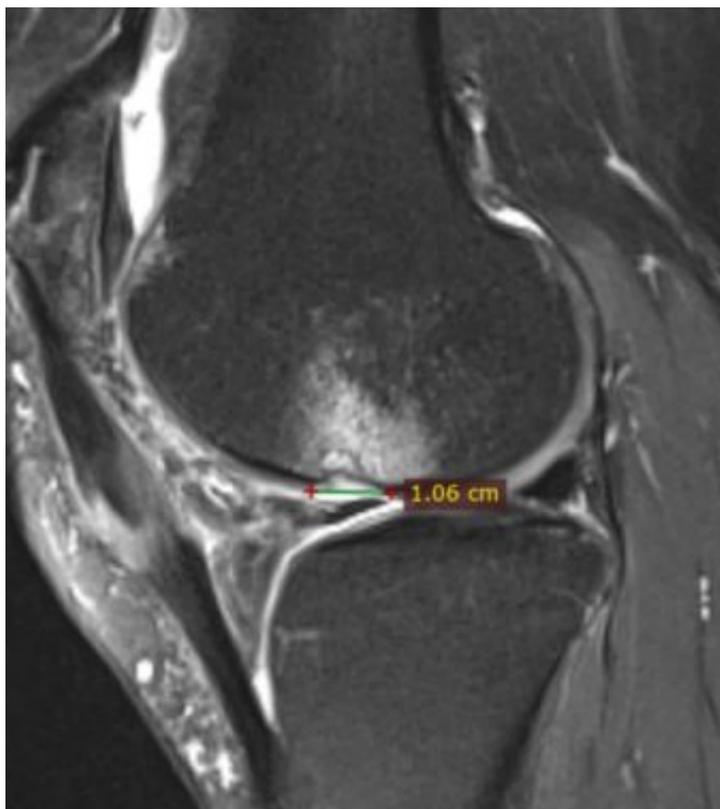


Рисунок 48 – Пациентка Е. На МРТ визуализируется костно-хрящевой дефект и субхондральный отек латерального мыщелка правой бедренной кости

Учитывая клинико-рентгенологическую картину рекомендовано оперативное лечение в объеме артроскопической ревизии правого коленного

сустава. Пациентка госпитализирована в плановом порядке. Интраоперационно при стандартном осмотре (артроскопическим крючком) обнаружен дефект хряща латерального мыщелка правой бедренной кости размером 1,1x1,7 см более 50% толщины, границы дефекта нечеткие (Рисунок 49). Степень поражения суставного хряща определена как 4 ст. по классификации ICRS.

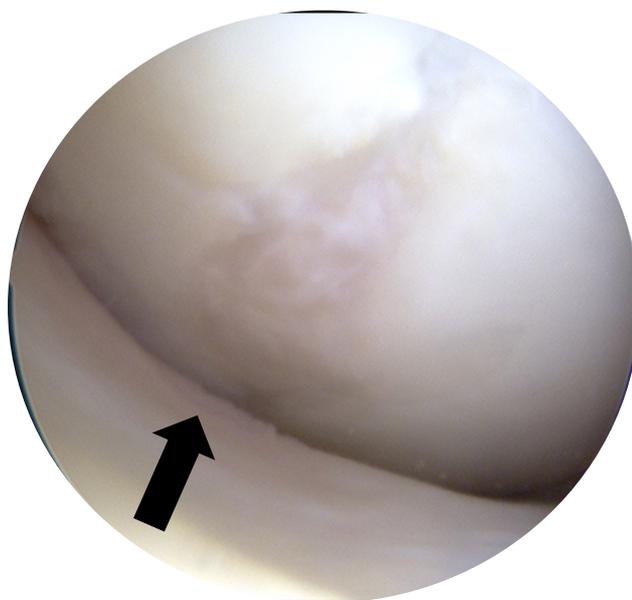


Рисунок 49 – Пациентка Е. Дефект хряща латерального мыщелка правой бедренной кости при артроскопическом осмотре

С использованием спектроскопии измерен эталонный спектр источника излучения  $I_{ref}(\lambda)$ , фоновый спектр  $I_{bg}(\lambda)$ , спектр сигнала, отраженного от хряща латерального мыщелка правой бедренной кости,  $I(\lambda)$ , по формуле 1 рассчитаны спектры отражения  $R(\lambda)$  (Рисунок 50). По формуле 2 рассчитан спектр эффективного поглощения  $OD(\lambda)$ . По формулам 3 и 4 определен оптический параметр наклона  $k$  (нм<sup>-1</sup>) и константа  $C$ , для прямой, проходящей через точки 850 нм и 1050 нм спектра  $OD(\lambda)$ . Рассчитан индекс содержания воды  $I_{OH}$  по формуле 6. Определены оптические параметры наклона  $k_2$  (нм<sup>-1</sup>) и константы  $C_2$  для прямой, проходящей через точки 910 нм и 950 нм спектра  $OD(\lambda)$  по формулам 7 и 8. Рассчитан индекс  $I_{CH}$  по формуле 9. Определена толщина  $d$  (мм) хрящевой ткани коленного сустава в области измерения по формуле 10.

Время, затраченное на измерение дефекта, составило 8,5 мин.

Полученные параметры свидетельствуют о нежизнеспособности хряща. Размер дефекта составил 2,5х2,5 см и площадью 6,25 см<sup>2</sup>.

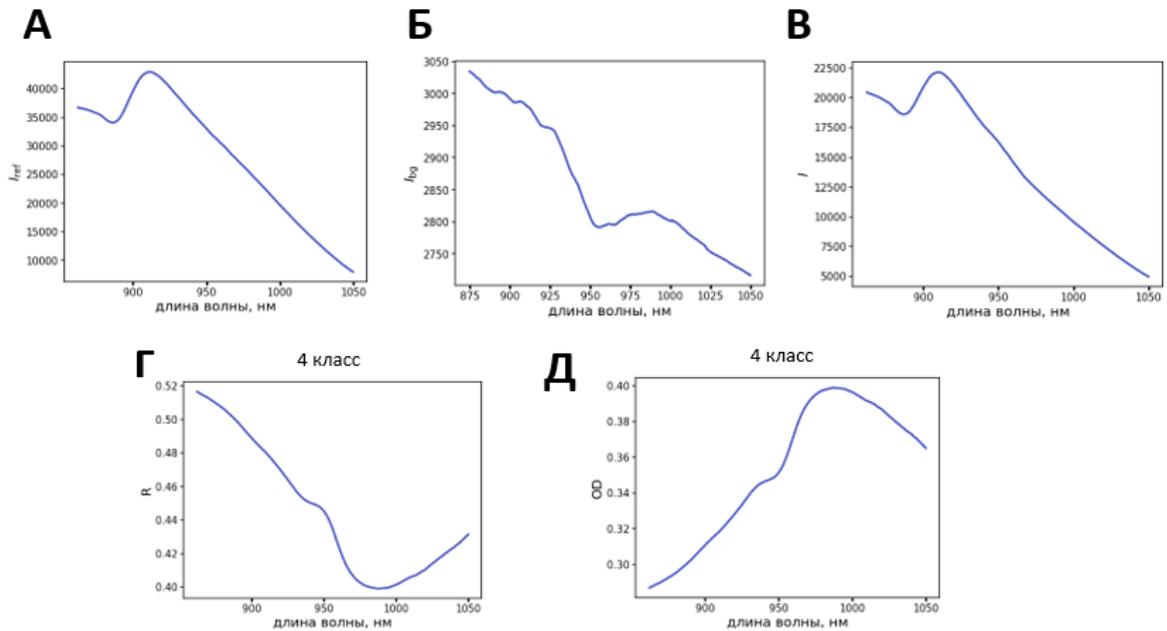


Рисунок 50 – Пациентка Е. Спектры отражения и спектр эффективного поглощения

Заключение: данные спектроскопии латерального мыщелка правой бедренной кости соответствуют поражению хряща 2Б ст.

Участок деградации и размер дефекта отмечали на Карте коленного сустава (Рисунок 51).

Таким образом, в ходе оперативного вмешательства полученные данные спектроскопии позволили определить точные границы дефекта, площадь которого была более чем в 3 раза больше, чем при артроскопическом осмотре, и в 4,5 раза больше, чем по данным МРТ. Это позволило выбрать подходящий метод хондропластики и определило объем дальнейшей операции.

Карта результатов артроскопии коленного сустава № 01 Дата: 09/11/22  
 ФИО хирурга Молодик А.В.  
 ФИО пациента Е. Дата рождения: 1/1/1  
 Диагноз до операции: Правосторонний комбинированный 1-ст. колено-хрящевой дефект латеральной мыщелка берцовой кости в области с.м.  
 Сустав:  Правый  Левый  
 Артроскопические доступы:  центральный  переднемедиальный  
 переднелатеральный  верхнемедиальный  верхнелатеральный  дополнительные  
 Положение надколенника:  норма  низкое  высокое

Повреждение капсулы <input type="checkbox"/> Повреждение менисков	
<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="radio"/> Полный</li> <li><input type="radio"/> Неполный</li>   <li><input type="radio"/> Горизонтальный</li> <li><input type="radio"/> Поперечный (радиальный)</li> <li><input type="radio"/> Продольный (вертикальный)</li> <li><input type="radio"/> Лоскутный</li> <li><input type="radio"/> Разрыв по типу «ручки лейки»</li> <li><input type="radio"/> Дискоидный</li> <li><input type="radio"/> Дегенеративный</li> <li><input type="radio"/> Комбинированный</li>   <li><input type="radio"/> Киста</li> <li><input type="radio"/> Кальцификация</li> <li><input type="radio"/> Резецированный</li> <li><input type="radio"/> Регенерат</li> <li><input type="radio"/> Гипермобильность</li> </ul>	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;"> <p>Латеральный мениск</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>Медиальный мениск</p> </div> </div> <p>Синовиальные складки</p> <input type="checkbox"/> Супрапателлярная <input type="checkbox"/> Медиопателлярная <input type="checkbox"/> Инфрапателлярная
Повреждение связок	Локализация
<ul style="list-style-type: none"> <li>○ МКС: <input type="checkbox"/> полное <input type="checkbox"/> частичное</li> <li>○ ЛКС: <input type="checkbox"/> полное <input type="checkbox"/> частичное</li> <li>○ ПКС: <input type="checkbox"/> полное <input type="checkbox"/> частичное</li> <li>○ ЗКС: <input type="checkbox"/> полное <input type="checkbox"/> частичное</li> <li>○ Трансплантат ПКС: <input type="checkbox"/> норма <input type="checkbox"/> повреждение</li> <li>○ Трансплантат ЗКС: <input type="checkbox"/> норма <input type="checkbox"/> повреждение</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> проксимально <input type="checkbox"/> середина <input type="checkbox"/> дистально</li> <li><input type="checkbox"/> проксимально <input type="checkbox"/> середина <input type="checkbox"/> дистально</li> <li><input type="checkbox"/> проксимально <input type="checkbox"/> середина <input type="checkbox"/> дистально</li> <li><input type="checkbox"/> проксимально <input type="checkbox"/> середина <input type="checkbox"/> дистально</li> <li><input type="checkbox"/> проксимально <input type="checkbox"/> середина <input type="checkbox"/> дистально</li> </ul>
Патология хряща	
Блоковая часть: <input type="checkbox"/> Медиальный отдел <input type="checkbox"/> Центральный отдел <input type="checkbox"/> Латеральный отдел	Медиальный мыщелок: <input type="checkbox"/> Передняя часть <input type="checkbox"/> Центральная часть <input type="checkbox"/> Задняя часть

Латеральный мыщелок: <input checked="" type="checkbox"/> Передняя часть <input checked="" type="checkbox"/> Центральная часть <input type="checkbox"/> Задняя часть	Латеральная фасетка надколенника: <input type="checkbox"/> Проксимальная часть <input type="checkbox"/> Дистальная часть
Карта оценки дефекта хряща	Размер дефекта
	2,5x2,5 см (6,25 см <sup>2</sup> )

Особые отметки:

По результатам МРТ: состояние после реконструкции от PFL. Костно-хрящевой дефект лат. мыщелка бедра размером 1,0x1,4 см.  
 При артроскопической ревизии дефект латер. мыщелка берцовой кости 1,1x1,8 см, по классификации ICRS - 4ст.  
 Возраст пациента 8,5 года.

Заключение:

Факт незначительной реконструкции 2,5 см<sup>2</sup> поврежденной хрящевой латер. мыщелка правой берцовой кости.

Рисунок 51 – Пациентка Е. Карта оценки дефекта хряща правого коленного сустава

## ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе представлена реализация метода спектроскопии диффузного рассеяния света, его количественное описание и характеристика механических свойств интраартикулярных тканей на примере патологии хряща и субхондральной кости, а также детектирование гистологических изменений тканей.

В эксперименте на эксплантах коленного сустава разработан способ исследования интраартикулярных тканей коленного сустава с применением спектроскопии диффузного отражения. В ходе моделирования были рассчитаны эффективные спектры поглощения для схемы регистрации с расстоянием между волокнами источника и детектора 2,5 мм. После этого для моделируемых спектров рассчитывали параметры  $C$ ,  $k$ ,  $I_{OH}$ ,  $I_{CH}$ .

Спектры ДРС, соответствующие более толстым областям хряща, характеризуются более высокими значениями  $I_{OH}$ . Индекс содержания воды  $I_{OH}$  линейно коррелирует с толщиной хряща ( $R = 0,95$ ). Для объяснения этой зависимости было смоделировано распространение света в структурах, имитирующих измеряемые эксплантаты.

Для оценки потенциала применения ДРС в диагностике интраартикулярной патологии был проведен статистический анализ измеренных спектральных характеристик эксплантов различных стадий ICRS, а также корреляция между оптическими и механическими параметрами.

Классификация ICRS предусматривает 5 степеней поражения: от здорового хряща (стадия 0) до отсутствия хряща и обнаженной субхондральной кости (стадия IV), однако не учитывает диагностику неполного отслоения хряща. В основе классификации лежат признаки, определяющие потерю структурной целостности хряща в процессе дегенерации.

В медиальном отделе наиболее часто встречались умеренные и тяжелые повреждения хряща (III–IV степени) по сравнению с латеральным отделом.

Для степени II, которая характеризуется не только потерей блестящей и гладкой поверхности хряща, но и частичными дефектами толщины с трещинами на

поверхности, не достигающими субхондральной кости, структурные изменения матрикса имеют выраженный характер, что напрямую влияет на механические свойства хряща. Это влияние существенно и отражается в изменении среднего модуля Юнга в 1,4 раза (модуль Юнга (I) =  $7,1 \pm 3,0$  МПа, модуль Юнга (II) =  $5,1 \pm 2,8$  МПа).

Были оценены р-значения для времени релаксации  $\tau$  для каждой стадии ICRS. Несмотря на отсутствие статистически значимых различий времени релаксации  $\tau$  между степенями I и II, среднее время релаксации  $\tau$  между стадиями I и IV снижается более чем на 40% ( $\tau$  (I) =  $5,9 \pm 1,4$  сек,  $\tau$  (IV) =  $3,5 \pm 2,2$  сек). Можно предположить, что слабые статистические различия между I и II стадиями могут быть связаны с различием механизмов деградации хрящевой ткани, преобладающих на ранних стадиях, характеризующихся увеличением содержания воды в хряще и более легкой вымываемостью протеогликанов матрицы.

В эксперименте на эксплантах наблюдается значительное снижение модуля Юнга (на 77,5%) и времени стресс-релаксации (на 40,7%) на поздних стадиях ОА, которое можно объяснить с помощью теории пороупругости. Пороупругость хряща, включая повышение давления жидкости и сопротивление вязкому потоку через пористый ВКМ, играет важную роль в сопротивлении нагрузке, рассеянии энергии и всасывании (повышение динамической жесткости хряща с увеличением частоты сжатия), переносе растворенных веществ и жидкостей, смазке и механотрансдукции. Модель SLS дает слабую аппроксимацию пороупругости, однако обеспечивает более высокое качество аппроксимации по сравнению со степенной моделью релаксации. Таким образом, снижение модуля Юнга в 4,4 раза (I ст –  $7,1 \pm 3,0$  МПа, IV ст. –  $1,6 \pm 2,1$  МПа) может быть связано с размягчением хрящевого матрикса за счет увеличения пористости и уменьшения плотности. Увеличение пористости снижает сопротивление движению жидкости внутри хряща, что приводит к уменьшению времени релаксации (более быстрой релаксации).

Попарный тест показывает, что различия времени релаксации  $\tau$  между I и II степенью поражения хряща статистически недостоверны ( $5 \cdot 10^{-2} < P \leq 1$ ), но

статистически значимы различия между II и III ( $10^{-2} < P \leq 5 \cdot 10^{-2}$ ), а также III и IV ( $10^{-3} < P \leq 10^{-2}$ ) стадиями.

Далее был исследован метод спектроскопии диффузного отражения и определяемые с его помощью оптические параметры в качестве показателей прогрессирования ОА. Индекс содержания воды  $I_{OH}$ , состояние коллагеновой сети и концентрация гликозаминогликанов являются основными факторами, влияющими на механические свойства хряща. Индекс содержания воды, извлеченный из данных ДРС, оказался чувствительным параметром структурных изменений хряща. Моделирование распространения света Монте-Карло в хрящах позволило установить, что индекс  $I_{OH}$ , рассчитанный для модельных спектров, линейно возрастает с толщиной хряща в диапазоне от 0 до 4 мм и временем вязкоупругой релаксации ( $R = 0,81$ ). Различия между группами I и II являются статистически значимыми ( $10^{-3} < p \leq 10^{-2}$ ) при анализе выборок параметра С. Стадии II и III возможно отличить при анализе индекса содержания воды  $I_{OH}$  ( $10^{-2} < p \leq 5 \cdot 10^{-2}$ ),  $I_{CH}$  ( $10^{-2} < p \leq 5 \cdot 10^{-2}$ ), а также параметров  $k$  ( $10^{-4} < p \leq 10^{-3}$ ) и С ( $10^{-2} < p \leq 5 \cdot 10^{-2}$ ). Отличие в III и IV стадиях является самым ярким и находит проявление во всех исследуемых параметрах с высоким значением статистической значимости ( $10^{-4} < p \leq 10^{-3}$ ).  $I_{CH}$  оказался менее чувствительным параметром: он значимо меняется для IV стадии, когда происходит увеличение вклада оптических параметров кости в сигнал ДРС.

Проведенное гистологическое исследование позволило подтвердить наличие значимой положительной корреляции между механическими (модуль Юнга, время релаксации) и оптическими свойствами ( $I_{OH}$ ,  $I_{CH}$ , С,  $k$ ) хряща, а именно между показателями  $I_{OH}$  и  $I_{CH}$  от времени вязкоупругой релаксации  $\tau$  ( $R = 0,7$ ,  $P = 1,810^{-12}$ ). Это означает, что полученные в ходе картирования результаты сопоставимы с данными спектроскопии диффузного отражения, которая может быть применима в клинической диагностике патологии интраартикулярных тканей.

Проведенный попарный тест более 600 измерений спектров ДРС показал, что различия между степенями поражения хряща по классификации ICRS выражены

отчетливо и могут быть описаны оптическими параметрами  $I_{OH}$ ,  $I_{CH}$ ,  $C$ ,  $k$ . Различия между группами I и II являются статистически значимыми ( $10^{-3} < p \leq 10^{-2}$ ) при анализе выборок параметра  $C$ . Стадии II и III становится возможным отличить при анализе индекса содержания воды  $I_{OH}$  ( $10^{-2} < p \leq 5 \cdot 10^{-2}$ ),  $I_{CH}$  ( $10^{-2} < p \leq 5 \cdot 10^{-2}$ ), а также  $k$  ( $10^{-4} < p \leq 10^{-3}$ ) и  $C$  ( $10^{-2} < p \leq 5 \cdot 10^{-2}$ ). Отличие групп III и IV является самым ярким и находит проявление во всех исследуемых параметрах с высоким значением статистической значимости ( $10^{-4} < p \leq 10^{-2}$ ). Значения полученных параметров позволяют обеспечить достоверную дифференциацию между степенями повреждения хряща и определить стадию деградации с помощью модели машинного обучения, а также вычислить толщину хрящевой ткани коленного сустава. Линейная корреляция оптических параметров со степенью деградации по шкале ICRS позволяет использовать эти параметры в созданном классификаторе состояния хряща ( $R=0,81$ ).

Ранние стадии заболевания характеризуются размягчением хряща, гистологической картиной потери протеогликанов, разрушением коллагеновой сети и повышением гидратации. По мере прогрессирования ОА организация хондронов начинает разрушаться, и в суставном хряще формируются вертикальные трещины. На поздних стадиях ОА хрящевой матрикс разрушается и субхондральная кость обнажается. Вследствие этого происходит деформация костей с последующим ремоделированием [161, 276]. Своевременное детектирование изменений, происходящих при ОА на молекулярном уровне, позволит предупредить дальнейшую деструкцию хряща. Гистологическая оценка подтвердила классификацию ICRS для всех образцов. Кроме того, была выявлена статистически значимая сильная корреляция между степенью деградации по шкале ICRS и гистологической классификацией OARSI ( $R=0,970$ ,  $p \leq 0,05$ ).

Корреляционная связь гистологической картины и индекса содержания воды  $I_{OH}$  была умеренной ( $R=-0,677$ ,  $p \leq 0,05$ ) и выше, чем корреляционная связь между  $I_{CH}$  и OARSI ( $R=0,352$ ,  $p \leq 0,05$ ).

Биомеханические свойства суставного хряща определяются составом внеклеточного матрикса, изменения в составе которого влияют на его

механическую стабильность. Механизмы деградации, преобладающие на ранних стадиях ОА, характеризуются изменениями в структуре коллагена и протеогликанов [210]. В результате нарушения структуры коллагеновые волокна в большей степени насыщаются ОН-группами. Это ведет к увеличению расстояния между фибриллами и снижению прочности волокон. Кроме того, индуцированное цитокинами изменение метаболической активности клеток хрящевой ткани приводит к снижению экспрессии коллагена II типа и усилению активности ферментов катаболизма протеогликанов. В результате разрушения молекулы протеогликанов активнее вымываются из хрящевой ткани [297].

Исследование показало, что, хотя МРТ может выявить серьезные повреждения хряща, незначительные повреждения хряща часто недооцениваются или вообще не выявляются по сравнению с артроскопической оценкой. Однако, для ранней диагностики остеоартрита возможности МРТ ограничены. Это касается и артроскопической оценки, поскольку визуально невозможно определить истинные границы патологических изменений.

Однако, метод оптической спектроскопии способен выявить изменения количества ОН и СН групп в компонентах хрящевой ткани и может точно идентифицировать истинные границы патологически измененных участков. Таким образом, констатировать действительную площадь и степень хондропатии хряща, что подтверждается проведенным гистологическим исследованием. Степень дегенерации была самой высокой при измерениях спектров ( $p < 0,001$ ).

Применение разработанного алгоритма в повседневной практике позволит улучшить качество жизни у пациентов с остеоартритом и отсрочить или избежать его развития. Реализация алгоритма на основе методик машинного обучения, способного определить степень остеоартрита, исходя из количественных характеристик, повысит эффективность как первичной диагностики, так и динамического контроля состояния хряща на протяжении лечения остеоартрита. Разработанная мобильная установка позволяет по набору оптических маркеров производить экспресс-диагностику состояния ткани хряща, субхондральной кости, менисков, связок и синовиальной оболочки в условиях операционной *in vivo*. На

данный момент в мире не существует аналогов такой модели. Предложенный способ диагностики позволяет по измерению спектров ДРС вычислить толщину хряща и оптические параметры, однако не предоставляет информации об их пространственном распределении.

Метод оптической спектроскопии обладает чувствительностью, сравнимой с магнитно-резонансной томографией [276], и при этом менее ресурсоемок и применим интраоперационно.

Известно, что лечение гонартроза требует персонифицированного подхода [33]. Точная количественная оценка и качественная классификация поражений хряща имеют решающее значение для принятия решения о дальнейшей тактике лечения и необходимости повторной операции. В определении тактики лечения хрящевых и костно-хрящевых дефектов важную роль играют размер и площадь дефекта, а также жизнеспособность хряща и субхондральной кости [1, 2, 40, 100].

Оптическая спектроскопия значительно повысит точность результатов артроскопии и произведет революцию в методах клинического выполнения традиционной артроскопии. В ходе операции становится возможным определение истинных размеров и границ дефекта. Предложенный метод визуализации может помочь в диагностике ранних стадий ОА, правильном выборе вида хондропластики и размера трансплантата, мониторинге прогрессирования повреждения хряща, а в случае использования аутологичных хондроцитов рассчитать необходимое количество клеток.

Так, возникла необходимость создания классификации, основанной на спектроскопических данных, так как данные спектроскопии более точные. Клинические примеры продемонстрировали, что спектроскопия позволяет выявлять невидимые глазу хирурга изменения хряща и субхондральной кости, при этом нетравматична и существенно не увеличивает время операции, значительно повышая качество диагностики и оказываемого лечения. Установлено, что в ряде случаев визуально здоровый хрящ уже является нежизнеспособным.

Среднее время ( $7,6 \pm 2,02$  мин), затраченное на измерение дефекта, существенно не увеличивает время операции. Переход к точному количественному

анализу интраартикулярных тканей позволит снизить уровень затрат в области здравоохранения за счет экономии операционных и административных расходов.

Исследование демонстрирует потенциал спектроскопической визуализации как многообещающего инструмента для интраоперационной диагностики внутрисуставной патологии, который обеспечит персонифицированный подход в лечении патологии коленного сустава. Спектроскопия обладает наилучшей чувствительностью для оценки ранней дегенерации гиалинового хряща.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В период с 2021 по 2023 год было проведено проспективное пилотное исследование, которое было разделено на 2 этапа (2 группы) – экспериментальный и клинический.

В группе 1 в качестве предмета исследования в работе выступали экспланты фрагментов коленного сустава человека, которые были получены в процессе планового оперативного вмешательства – первичного тотального эндопротезирования коленного сустава по поводу остеоартрита 3–4 ст. (по Kellgren-Lawrence). Получаемые в процессе операции экспланты представляют собой фрагменты бедренной и большеберцовой костей, покрытые хрящевой тканью. У 11 пациентов (8 женщин и 3 мужчин) в возрасте от 54 до 72 лет было отобрано 38 эксплантов с участками хондропатии I, II, III, IV степени по шкале ICRS. У каждого пациента было забрано от 1 до 5 эксплантов. Средний возраст составил  $64,18 \pm 6,01$  лет.

В эксперимент не включили 7 эксплантов с участками обызвествления на фоне инъекций глюкокортикостероидов; экспланты со значительными повреждениями суставной поверхности, полученными в ходе оперативного вмешательства (повреждения хряща коагулятором или фрагментирование экспланта в ходе резекции суставных поверхностей).

Затем выполняли оценку эксплантов по шкале ICRS. Чтобы определить и обосновать возможности исследования состояния интраартикулярных тканей коленного сустава с помощью спектроскопии диффузного отражения проводили последовательные измерения оптических параметров путем измерения спектров ДРС и механических свойств методом индентирования. Для определения корреляции гистологических и спектроскопических данных проводили гистологическое исследование. Заключительной частью экспериментального этапа являлось создание классификатора деградации суставного хряща на основе количественных данных оптической спектроскопии.

Для проведения клинического этапа работы разрабатывали методику интраоперационного применения спектроскопии диффузного отражения.

На клиническом этапе работы (группа 2) были включены 10 пациентов (3 женщины и 7 мужчин) в возрасте от 28 до 56 лет для выполнения планового оперативного вмешательства – артроскопической ревизии коленного сустава.

Средний возраст пациентов, включенных во 2 этап, составил  $41,3 \pm 10,46$  лет.

Интраоперационно через артроскопические доступы выполняли оценку хряща по классификации ICRS, измеряли оптические параметры путем измерения спектров ДРС с определением границ патологических изменений. Перед оперативным вмешательством пациентам выполняли МРТ.

После проведения экспериментального и клинического этапов исследования проводили анализ результатов. На основе данных оптической спектроскопии создали рабочую классификацию степени хондропатии и разработали лечебно-диагностический алгоритм.

Для исследования взаимосвязи между оптическими и механическими свойствами хрящевой ткани проводили последовательное картирование оптических и механических характеристик эксплантов. В ходе эксперимента для выполнения оптических и механических измерений экспланты фиксировали в специальной системе, обеспечивающей механическую фиксацию экспланта металлическими винтами. Измерения проводили с использованием двух оптических волокон (диаметр волокна 550 мкм, числовая апертура 0,22), закрепленных на расстоянии 2,5 мм.

Нами были выделены 5 областей получения спектров ДРС – латеральный и медиальный отдел плато большеберцовой кости, блоковый отдел бедренной кости, латеральный и медиальный мышелки бедренной кости. Всего было получено 658 спектров от различных участков эксплантов, которые были классифицированы по ICRS: 40 спектров от участков нормального хряща, 71 спектр с 1 степенью, 113 – со 2 степенью, 185 и 249 – с 3 и 4 степенью, соответственно

Спектр диффузного отражения описывают параметры  $I_{OH}$ ,  $I_{CH}$ ,  $k$ ,  $C$  и толщина  $d$ , полученные для участков эксплантов хрящевой ткани *ex vivo*. Для

определения стадии деградации хрящевой ткани по шкале ICRS по данным спектроскопии диффузного отражения, а также определяемой с их помощью толщины, используют модель машинного обучения. Предпочтительным вариантом реализации данной модели является модель, основанная на методе C-Support Vector Classification. Обучение проводили с использованием стандартных подходов валидации и тестирования модели на данных, полученных для спектров *ex vivo*.

В качестве источника света для метода ДРС использовали вольфрам-галогеновую лампу со сплошным спектром излучения (Thorlabs, Германия). Регистрация отклика осуществлялась в диапазоне 850–1050 нм с помощью спектрометра QE2000pro (OceanOptics, США). Перед каждой серией экспериментов измеряли эталонный спектр лампы  $I_{ref}$ , полученный при измерении от стандарта диффузного отражения, а также фоновый спектр  $I_{bg}$ .

В результате измерения спектров ДРС был рассчитан спектр отражения  $R(\lambda)$ :

$$R(\lambda) = \frac{I - I_{bg}}{I_{ref} - I_{bg}},$$

где  $I$  – спектр сигнала, отраженного от хряща или мениска. Значения оптической плотности в зависимости от длины волны – эффективный спектр поглощения  $OD(\lambda)$  был рассчитан следующим образом:

$$OD(\lambda) = -\log_{10}(R(\lambda)).$$

Из полученного спектра  $OD(\lambda)$  далее определяются оптические параметры следующим образом: определяются значение наклона  $k$  ( $\text{nm}^{-1}$ ) и константы  $C$  для прямой, проходящей через точки 850 и 1050 нм спектра  $OD(\lambda)$ , характеризующей рассеяние света в ткани хряща по формулам:

$$k = \frac{OD(1050) - OD(850)}{1050 - 850},$$

$$C = OD(850),$$

где  $k$  и  $C$  характеризуют рассеяние света в ткани хряща. Данная прямая описывается уравнением  $y = k(\lambda - 850) + C$ . Рассчитывается индекс содержания воды  $I_{OH}$  как высота спектра  $OD(\lambda)$  над данной прямой на длине волны 980 нм:

$$I_{OH} = OD(980) - (k \cdot (980 - 850) + C).$$

Аналогично определяется значение величины  $I_{CH}$  как высота спектра  $OD(\lambda)$  в точке 930 нм относительно прямой, проходящей через точки 910 нм и 950 нм:

$$I_{CH} = OD(930) - (k_2 \cdot (930 - 910) + C_2),$$

где

$$k_2 = \frac{OD(950) - OD(910)}{950 - 910},$$

$$C_2 = OD(910).$$

На основании измерений значения  $I_{OH}$  становится возможным вычислить толщину исследуемого хряща коленного сустава по формуле:

$$d = \frac{(I_{OH} - 0.062)}{0.025} \text{ мм.}$$

Измерения механических свойств и толщины проводили на микромеханической системе Mach-1™ v500csst (Biomomentum Inc., Лаваль, Квебек, Канада). Для описания экспериментов по вдавливанию-релаксации хрящевой ткани в качестве функции релаксации была выбрана стандартная модель линейного твердого тела (SLS), где основными параметрами являются: мгновенный модуль Юнга  $E_0$ , равновесный модуль Юнга  $E$  и время вязкоупругой релаксации.

По результатам эксперимента на эксплантах было установлено, что спектры ДРС, соответствующие более толстым областям хряща, характеризуются более высокими значениями  $I_{OH}$ . Индекс содержания воды  $I_{OH}$  линейно коррелирует с толщиной хряща ( $R = 0,95$ ). Для объяснения этой зависимости было смоделировано распространение света в структурах, имитирующих измеряемые экспланты.

Моделирование распространения света в хрящах с использованием моделирования Монте-Карло позволило установить, что индекс  $I_{OH}$ , рассчитанный для модельных спектров, линейно возрастает с толщиной хряща в диапазоне от 0 до 4 мм для всех концентраций воды (коэффициент корреляции Спирмена:  $R = 0,81$ ). Однако используемая схема измерений не позволяет разделить вклады изменения концентрации и толщины. Уменьшение толщины хряща приводит к регистрации оптического сигнала субхондральной кости, что влечет за собой

увеличение вклада  $I_{CH}$  в регистрируемый спектр ДРС. Для оценки изменений коэффициента рассеяния хряща можно использовать изменение параметров  $k$  и  $C$ .

Для оценки потенциала применения спектроскопии ДРС при выполнении артроскопических операций был проведен статистический анализ измеренных спектральных характеристик хряща различных стадий ICRS (31 образец, более 600 спектров), а также корреляция между оптическими и механическими параметрами.

Наблюдалось значительное снижение (в 4,4 раза) среднего значения модуля Юнга по шкале ICRS, которое составляет практически 80% для степени IV по сравнению с I степенью (I ст –  $7,1 \pm 3,0$  МПа, IV ст. –  $1,6 \pm 2,1$  МПа). Этот факт отражает размягчение и снижение плотности хрящевого матрикса вследствие прогрессирования ОА. Парный тест между оценками ICRS показывает, что разница модуля Юнга между всеми группами является статистически значимой ( $10^{-4} < P \leq 10^{-3}$ ).

Во время проведения статистического теста были оценены  $p$ -значения для времени релаксации  $\tau$  среди стадий ICRS. Наблюдалось среднее снижение  $\tau$  более чем на 40% между стадиями I и IV. Попарный тест в нескольких группах показывает, что разница между I и II степенью поражения хряща статистически недостоверна ( $5 \cdot 10^{-2} < P \leq 1$ ), в то время как парные различия между группами II и III ( $10^{-2} < P \leq 5 \cdot 10^{-2}$ ), III и IV ( $10^{-3} < P \leq 10^{-2}$ ), I и III, I и IV, II и IV ( $10^{-4} < P \leq 10^{-3}$ ) статистически значимы. Можно предположить, что слабые статистические различия между I и II стадиями могут быть связаны с различием механизмов деградации хрящевой ткани, преобладающих на ранних стадиях.

Проведенное исследование позволило подтвердить наличие значимой положительной корреляции между механическими и оптическими свойствами ( $I_{OH}$ ,  $I_{CH}$ ,  $C$ ,  $k$ ) хряща ( $R = 0,7$ ,  $P = 1,8 \cdot 10^{-12}$ ). Следовательно, ДРС можно использовать для неинвазивной оценки механических свойств хряща.

Полученные данные механических и оптических параметров хряща и субхондральной кости для каждой стадии деградации по шкале ICRS были использованы для создания классификатора оптических параметров  $I_{OH}$ ,  $I_{CH}$ ,  $k$  и  $C$ .

После создания классификатора оптических параметров на тех же образцах (31 образец, более 600 спектров) было проведено исследование различий оптических характеристик как показателей прогрессирования ОА. Чтобы проиллюстрировать возможность реализации данного подхода *in vivo*, для эксплантов хрящевой ткани были построены зависимости определенных  $I_{OH}$ ,  $I_{CH}$ ,  $k$ ,  $C$  от стадии ОА по шкале ICRS, произведен попарный тест параметров спектроскопии по группам ICRS. Значения  $p$  для каждого парного теста были скорректированы поправкой Бонферрони ( $p$ -value annotation legend: ns:  $5 \cdot 10^{-2} < p \leq 1$ ; \*:  $10^{-2} < p \leq 5 \cdot 10^{-2}$ ; \*\*:  $10^{-3} < p \leq 10^{-2}$ ; \*\*\*:  $10^{-4} < p \leq 10^{-3}$ ; \*\*\*\*:  $p \leq 10^{-4}$ ).

При переходе от I к II степени наблюдается небольшой рост на 5% среднего значения  $I_{OH}$  с последующим значительным снижением среднего значения параметра. По среднему значению  $I_{CH}$  достоверных различий для I–III степени не наблюдалось; однако при IV степени наблюдалось резкое увеличение более чем на 30%, связанное со значительным уменьшением объема хряща. Для параметра  $k$  наблюдалось постепенное снижение среднего значения на 35% в зависимости от степени дегенерации хряща. По показателю  $C$  наблюдался рост среднего значения при переходе от I степени к III с последующим снижением для IV степени. Изменение  $k$  и  $C$  в зависимости от степени повреждения хряща может свидетельствовать о разупорядочении коллагена и изменениях рассеивающих свойств, как показано моделированием Монте-Карло.

Установлено, что определяемые параметры существенно отличаются для различных стадий. Различия между группами I и II является статистически значимыми ( $10^{-3} < p \leq 10^{-2}$ ) при анализе выборок параметра  $C$ . Стадии II и III становится возможным отличить при анализе индекса содержания воды  $I_{OH}$  ( $10^{-2} < p \leq 5 \cdot 10^{-2}$ ),  $I_{CH}$  ( $10^{-2} < p \leq 5 \cdot 10^{-2}$ ), а также  $k$  ( $10^{-4} < p \leq 10^{-3}$ ) и  $C$  ( $10^{-2} < p \leq 5 \cdot 10^{-2}$ ). Отличие групп III и IV является самым ярким и находит проявление во всех исследуемых параметрах с высоким значением статистической значимости ( $10^{-4} < p \leq 10^{-2}$ ).

От менисков, связок и синовиальной оболочки были также получены спектральные отклики, однако для тканей отличных от хряща и субхондральной

кости, потребуется спектрометр с длиной волны, определяющей содержание других оптических параметров.

Для выполнения гистологического исследования было забрано по 6 образцов для каждой стадии деградации хряща по классификации ICRS. Гистологическая оценка степени повреждения хряща OARSI подтвердила классификацию ICRS для всех образцов ( $R=0,970$ ,  $p \leq 0,05$ ). Для каждой стадии деградации хряща в соответствии с классом по шкале ICRS были получены оптические параметры  $I_{OH}$ ,  $I_{CH}$ ,  $k$ ,  $C$ . Однако, в статистическую обработку гистологического исследования не были включены параметры  $k$  и  $C$ , поскольку их изменение может свидетельствовать о разупорядочении коллагена и изменениях рассеивающих свойств.

С целью подтверждения корреляционных взаимосвязей взяли по 6 гистологических образцов для каждой стадии деградации по ICRS и установили гистологическую степень деградации хряща по классификации OARSI. Всего проанализировано 30 гистологических образцов.

Гистологическая оценка степени повреждения хряща, проведенная в этой работе, подтвердила классификацию ICRS для всех образцов, включая I стадию ( $p \leq 0,05$ ).

Выполнен корреляционный анализ взаимосвязи степени поражения хряща по классификации OARSI и индекса содержания воды  $I_{OH} 10^{-2}$ . При оценке связи индекса содержания воды  $I_{OH} 10^{-2}$  и степени поражения хряща по классификации OARSI была установлена заметной тесноты обратная связь ( $R = -0,535$ ,  $p \leq 0,05$ ). Также была установлена положительная слабая корреляционная взаимосвязь между  $I_{CH}$  и OARSI ( $R = 0,352$ ,  $p \leq 0,05$ ).

Использование метода спектроскопии диффузного отражения позволяет получить данные от происходящих на клеточном и биохимическом уровнях изменений. При выявлении взаимосвязи между степенью деградации хряща по шкале ICRS и гистологической степенью поражения хряща по классификации OARSI были установлены статистически значимые различия ( $R=0,970$ ,  $p < 0,001$ ).

С использованием спектроскопии диффузного отражения света определены параметры хрящевой ткани, представляющие существенную диагностическую ценность. Индекс содержания воды, извлеченный из данных ДРС, оказался чувствительным параметром структурных изменений хряща. В работе показано, что изменение содержания воды значительно различается между II и III, а также III и IV стадиями.  $I_{CH}$  оказался чувствительным параметром для IV стадии, когда происходит увеличение вклада оптических параметров субхондральной кости в сигнал ДРС.

На клиническом этапе пациентам интраоперационно артроскопически выполнялась оценка степени повреждения хряща по классификации ICRS, измерение спектров ДРС *in vivo*.

Перед оперативным вмешательством пациенты выполняли МРТ. По данным МРТ наиболее часто встречающейся патологией было повреждение медиального мениска – у 7 (70%) пациентов, у 5 (50%) пациентов была выявлена антеромедиальная или мультинаправленная нестабильность коленного сустава, у 3 (30%) пациентов диагностирован хронический синовит, у 2 (20%) – гипертрофия жирового тела Гоффа, у 1 (10%) – параменисковая киста и еще у 1 (10%) пациента – гипертрофия медиопателлярной складки. У всех пациентов в группе имелись повреждения хряща: у 8 (80%) были выявлены дефекты глубиной менее 50% и у 2 (20%) – повреждения более чем на 50% глубины хряща или распространяющиеся на субхондральную кость.

В условиях операционной в положении пациента лежа на спине после трехкратной обработки операционного поля растворами антисептиков из передне-медиального и передне-латерального артроскопических доступов суставной хрящ и мениски визуально и пальпаторно артроскопическим крючком оцениваются по классификации ICRS. После оценки по классификации ICRS выполнялось зондирование поверхности хряща коленного сустава и регистрация оптического отклика.

Для проведения оптических волокон интраартикулярно был разработан приемо-передающий двухволоконный зонд, регистрирующий спектры диффузного

рассеяния света в диапазоне 850–1050 нм в режиме реального времени. В качестве источника излучения для метода ДРС использовалась вольфрам-галогеновая лампа со сплошным спектром излучения.

Перед каждой серией экспериментов измеряли эталонный спектр лампы  $I_{ref}$ , полученный при измерении от стандарта диффузного отражения, а также фоновый спектр  $I_{bg}$ . Измерения спектров ДРС выполняли по алгоритму, описанному в эксперименте. По полученным наборам значений  $I_{OH}$ ,  $I_{CH}$ ,  $k$ ,  $C$  для каждой области *in vivo* была определена стадия деградации хрящевой ткани по шкале ICRS с помощью модели машинного обучения, основанной на методе C-Support Vector Classification.

Применение спектроскопии диффузного отражения в ходе артроскопических вмешательств позволило выявить у 8 из 10 пациентов большую площадь дефекта (по сравнению с данными МРТ) и более тяжелую стадию деградации, что повлияло на дальнейшую тактику лечения пациентов.

Осложнений в ходе измерения спектров ДРС не было. Среднее время, затраченное на измерения, составило  $7,6 \pm 2,02$  мин, что существенно не увеличивает время операции, однако позволяет создать диагностическую карту состояния интраартикулярных тканей.

Полученные в ходе артроскопии данные заносились в стандартную Карту результатов артроскопии коленного сустава, включающую раздел с данными о пациенте и оперирующем хирурге, дату операции, диагноз до операции, артроскопические доступы, положение надколенника, подробный артроскопический осмотр коленного сустава, а также разработанную в ходе работы Карту оценки дефектов хряща с указанием размеров, особые отметки и заключение.

На основании данных оптических параметров хряща и субхондральной кости, полученных в ходе экспериментального и клинического этапов исследования, разработана классификация степени хондропатии.

Классификация представлена двумя степенями и отличается тем, что включает в себя степень, характеризующуюся отсутствием макроскопически

заметных дефектов или поверхностным поражением хряща, который не прилегает к субхондральной кости:

- 1А стадия – хрящ жизнеспособен;
- 1Б стадия – жизнеспособность хряща снижена;
- 2А стадия – отслойка нежизнеспособного хряща при визуальной сохранности;
- 2Б стадия – хрящ нежизнеспособен (визуальный дефект хряща).

Таким образом, даже при отсутствии видимых изменений хряща, определяемых как 0–1 ст. по классификации ICRS, при помощи спектроскопии диффузного отражения можно диагностировать нежизнеспособный хрящ.

Затем на основе рабочей классификации был разработан лечебно-диагностический алгоритм, позволяющий корректировать хирургическую тактику с учетом спектроскопических находок.

Выполнена клиническая апробация разработанного способа диагностики интраартикулярных тканей. Методика поясняется клиническими примерами.

Применение разработанного алгоритма в повседневной практике позволит реализовать персонифицированный подход и обеспечить своевременное лечение пациентов с хондропатией. Реализация алгоритма на основе методик машинного обучения, способного определить степень остеоартрита, исходя из количественных характеристик, повысит эффективность как первичной диагностики, так и динамического контроля состояния хряща на протяжении лечения остеоартрита. Разработанная мобильная установка позволяет по набору оптических маркеров производить экспресс-диагностику состояния ткани хряща, субхондральной кости, менисков, связок и синовиальной оболочки в условиях операционной *in vivo*. На данный момент в мире не существует аналогов такой модели. Предложенный способ диагностики позволяет по измерению спектров ДРС вычислить толщину хряща и получить оптические параметры, не нанося дополнительную травму, как при артроскопической биопсии, которая в послеоперационном периоде требует восстановительного периода.

Оптическая спектроскопия значительно повысит точность результатов артроскопии и произведет революцию в методах клинического выполнения традиционной артроскопии. В ходе операции становится возможным определение истинных размеров и границ дефекта. Предложенный метод визуализации может помочь в диагностике ранних стадий ОА, правильном выборе вида хондропластики и размера трансплантата, мониторинге прогрессирования повреждения хряща, а в случае использования аутологичных хондроцитов рассчитать необходимое количество клеток.

## ВЫВОДЫ

1. В ходе экспериментального исследования установлена статистически значимая обратная связь между степенью поражения хряща по классификации OARSI и индексом содержания воды  $I_{OH} 10^{-2}$  ( $R = -0,535$ ), а также индексом содержания СН  $I_{CH} 10^{-2}$  ( $R = 0,352$ ), определенных с помощью спектроскопии диффузного отражения, что позволяет считать этот метод информативным в отношении оценки состояния суставного хряща.
2. Экспериментальное исследование показало высокую степень корреляции данных о состоянии суставного хряща, полученных с помощью спектроскопии диффузного отражения и гистологического исследования ( $R = 0,7$ ).
3. Использование в ходе артроскопической ревизии коленного сустава разработанной методики спектроскопической диагностики увеличивает время операции в среднем на 7,5 минут, зато позволяет создать диагностическую карту состояния интраартикулярных тканей, на основе чего определить дальнейшую лечебную тактику.
4. Использование данных оптической спектроскопии позволило выделить дополнительную стадию поражения суставного хряща, когда при его отслойке отсутствуют внешние визуальные изменения, но хрящ утрачивает жизнеспособность.
5. Применение спектроскопии диффузного отражения в ходе артроскопического вмешательства на коленном суставе позволило у 8 пациентов из 10 скорректировать лечебную тактику вследствие выявления более тяжелых и обширных поражений суставного хряща.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для интраоперационной диагностики состояния суставного хряща с помощью методики спектроскопии диффузного отражения можно использовать спектрометр, регистрирующий отклик в диапазоне 850–1050 Нм, вольфрам-галогеновую лампу со сплошным спектром излучения и приемо-передающий зонд, состоящий из двух оптоволокон (диаметр 550 мкм, числовая апертура 0,22). Применение разработанной диагностической методики существенно не увеличивает время операции, позволяя при этом получить важную дополнительную информацию, способную повлиять на хирургическую тактику и план последующего лечения.
2. Для фиксации результатов спектроскопического обследования целесообразно использовать разработанную «Диагностическую карту коленного сустава», отмечая в ней локализацию и степень поражения суставного хряща в соответствии с созданной классификацией.
3. В ходе артроскопии коленного сустава целесообразно выполнять интраоперационную оптическую спектроскопию, так как этот метод при отсутствии выраженных визуальных изменений суставного хряща (I–II стадии по ICRS) позволяет выявить возможные существенно более тяжелые поражения, а при III–IV стадиях по ICRS – уточнить границы хондромалиции вокруг хрящевого дефекта. Эти данные, полученные интраоперационно, могут позволить своевременно скорректировать хирургическую тактику, что будет способствовать улучшению результатов лечения пациентов.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

БИК – ближнее инфракрасное излучение

БИКС – ближняя инфракрасная спектроскопия

ВКМ – внеклеточный матрикс

ДРС – диффузное рассеяние света

ДРС [DRS, diffuse reflectance spectroscopy] – спектроскопия диффузного отражения

ИК – инфракрасный

ИМТ – индекс массы тела

КТ – компьютерная томография

МРС – магнитно-резонансная спектроскопия

МРТ – магнитно-резонансной томографии

ОА – остеоартрит

ОКТ – оптическая когерентная томография

ПГ – протеогликаны

РС – рамановская спектроскопия

сГАГ – сульфатированные гликозаминогликаны

СК – субхондральная кость

СХ – суставной хрящ

УЗИ – ультразвуковое исследование

ФА – фотоакустическая визуализация

ФАС – фотоакустическая спектроскопия

ЯМР – ядерно-магнитный резонанс

ICRS – International Cartilage Regeneration and Joint Preservation Society

MOCART – Magnetic Resonance Observation of Cartilage Repair Tissue

OARSI – Osteoarthritis Research Society International

SLS – стандартная модель линейного твердого тела

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Актуальные вопросы хондропластики / Г.Д. Лазишвили, В.Р. Затикян, Э.Р. Шукюр-Заде [и др.] // Вестник Российского государственного медицинского университета. – 2013. – № 3. – С. 13–17.
2. Алгоритм хирургического лечения больных с рассекающим остеохондритом коленного сустава / К.А. Егизарян, Г.Д. Лазишвили, И.В. Храменкова [и др.] // Вестник Российского государственного медицинского университета. – 2018. – № 2. – С. 77–83.
3. Алексеева, Л.И. Субхондральная кость при остеоартрозе: новые возможности терапии / Л.И. Алексеева, Е.М. Зайцева // РМЖ. – 2004. – Т. 12. – № 20. – С. 1133–1136.
4. Алексеева, Л.И. Остеоартрит: эпидемиология, классификация, факторы риска и прогрессирования, клиника, диагностика, лечение / Л.И. Алексеева, Е.А. Таскина, Н.Г. Кашеварова // Современная ревматология. – 2019. – Т. 13. – № 2. – С. 9–21.
5. Алексеева, Л.И. Ранний остеоартрит: разработка критериев диагностики / Л.И. Алексеева, К.А. Телышев // Современная ревматология. – 2020. – Т. 14. – № 3. – С. 140–145.
6. Анализ регенерации гиалинового хряща коленного сустава после лазерной обработки участков хондропатии различной степени / А.В. Лычагин, С.В. Иванников, В.В. Сурин, П.И. Петров, Т.А. Жарова, А.И. Наиманн, Я. Ян, Д.С. Бобров, А.В. Гаркави, И.А. Вязанкин, Ю.Р. Гончарук, М.М. Липина, Е.Б. Калинин, А.Ю. Заров // Кафедра травматологии и ортопедии. – 2023. – № 1 (51). – С. 36–46.
7. Астапенко, М.Г. О клинике и классификации первичного деформирующего остеоартроза / М.Г. Астапенко, К.В. Баятова // Терапевтический архив. – 1988. – Т. 60. – № 4. – С. 120–123.
8. Ахмедов, Б.Р. Рентгенография и магнитно-резонансная томография в диагностике остеоартроза коленного сустава / Б.Р. Ахмедов, Х.З. Гиясов, У.К. Касымова // Молодой ученый. – 2014. – № 2 (61). – С. 281–284.

9. Блоков, М.Ю. Малоинвазивная хондропластика локальных дефектов суставной поверхности мыщелков бедренной кости с использованием коллагеновой мембраны: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.15 – Травматология и ортопедия / Блоков Максим Юрьевич; ГБОУ ВПО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России. – Москва, 2016. – 142 с.
10. Брянская, А.И. Сравнительная оценка хирургических методов лечения пациентов с локальными глубокими дефектами суставной поверхности мыщелков бедренной кости: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.15 – Травматология и ортопедия / Брянская Анастасия Ивановна; ФГУ «РНИИТО им. Р.Р. Вредена» Минздравсоцразвития России. – Санкт-Петербург, 2011. – 186 с.
11. Взаимосвязь нейтрофильно-лейкоцитарного индекса, адипокинов и противовоспалительных цитокинов у лиц молодого и среднего возраста, страдающих ожирением / А.А. Михайлов, С.В. Гайдук, Р.Т. Велибеков [и др.] // Госпитальная медицина: наука и практика. – 2023. – Т. 6. – № 2. – С. 18–26.
12. Возможности комплексной диагностики начальных стадий остеоартроза / Н.А. Ромакина, Е.В. Гладкова, Ю.И. Титова, Ю.К. Гладкова // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2020. – Т. 16. – № 2. – С. 494–499.
13. Герцберг, Г. Спектры и строение простых свободных радикалов / Г. Герцберг; пер. с англ. – Москва: Мир, 1974. – 210 с. – Текст: непосредственный.
14. Гистологическая оценка патологических изменений суставов при различных способах индукции хронического артрита у крыс / А.А. Мужикян, Е.В. Шекунова, В.А. Кашкин [и др.] // Лабораторные животные для научных исследований. – 2018. – № 1. – С. 32–45.
15. Диагностическая ценность магнитнорезонансной томографии при патологии коленного сустава / И.М. Зафирный, В.А. Рогожин [и др.] // Травматология и ортопедия России. – 2005. – № 5. – С. 53–54.
16. Елизаров, М.П. Первичное тотальное эндопротезирование коленного сустава с применением активной роботической системы: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.15 – Травматология и ортопедия / Елизаров Михаил Павлович; ФГАОУ ВО Первый

МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). – Москва, 2022. – 218 с.

17. Ельяшевич, М.А. Атомная и молекулярная спектроскопия / М.А. Ельяшевич. – Москва: Гос. Изд-во физ.-мат. лит-ры, 1962. – 892 с. – Текст: непосредственный.

18. Зубок, Д.Н. Санационная артроскопия в лечении пациентов с гонартрозом: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.17 – Хирургия; 14.01.15 – Травматология и ортопедия / Зубок Дмитрий Николаевич; ФГОУ ППДПО «Государственный институт усовершенствования врачей МО РФ». – Москва, 2010. – 133 с.

19. Зуев-Ратников, С.Д. Новый способ аутопластики суставных поверхностей при лечении больных с деструктивно-дистрофическими заболеваниями коленного сустава: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.15 – Травматология и ортопедия / Зуев-Ратников Сергей Дмитриевич; ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России. – Самара, 2015. – 154 с.

20. Измалков, С.Н. Артроскопическая хондропластика в современных условиях: учебно-методическое пособие для врачей / С.Н. Измалков, Е.С. Гейдешман, А.Н. Братийчук. – Самара: СамГМУ, 2015. – 21 с. – Текст: непосредственный.

21. Клинические аспекты современной лучевой диагностики в травматологии и ортопедии / Г.В. Дьячкова, Ю.Л. Митина, К.А. Дьячков [и др.] // Гений ортопедии. – 2011. – № 2. – С. 84–90.

22. Клинические рекомендации «Гонартроз» (утв. Минздравом России) / Ассоциация травматологов-ортопедов России; Ассоциация ревматологов России. Одобрено Научно-практическим Советом Минздрава РФ. – 2021. – <https://legalacts.ru/doc/klinicheskie-rekomendatsii-gonartroz-utv-minzdravom-rossii/> – Текст: электронный.

23. Лазерная остеоперфорация в лечении спондилоартроза поясничного отдела позвоночника: экспериментальное и проспективное клиническое исследование / А.В. Лычагин, В.Г. Черепанов, Е.Б. Калинин, С.Г. Раденска-Лоповок, М.М. Липина, П.И. Петров, Е.Ю. Целищева, Л.А. Якимов, Ю.Р. Гончарук, Д.А. Погосян, И.А. Вязанкин // Кафедра травматологии и ортопедии. – 2022. – № 4 (41). – С. 27–36.

24. Лисицына, Е.М. Современный подход к патогенезу, диагностике и лечению остеоартроза коленного сустава / Е.М. Лисицына, М.П. Лисицын, А.М. Заремук // Эндоскопическая хирургия. – 2016. – Т. 22. – № 6. – С. 57–67.
25. Лычагин, А.В. Хирургическое лечение структурно-функциональных нарушений при гонартрозе: дис. ... док. мед. наук: 14.01.15 – Травматология и ортопедия / Лычагин Алексей Владимирович; ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России. – Москва, 2017. – 266 с.
26. Лю, И. Тотальное эндопротезирование тазобедренного сустава у пациентов с ожирением: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.15 – Травматология и ортопедия / Лю И; ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). – Москва, 2022. – 131 с.
27. Магнитнорезонансная томография в диагностике повреждений коленного сустава / А.Л. Бурулев, Д.В. Медведев, А.П. Трачук, С.Ю. Доколин // Травматология и ортопедия России. – 2005. – № 5. – С. 33.
28. Магнитно-резонансная томография при остеоартрозе / Е.М. Зайцева, Л.И. Алексеева, А.В. Смирнов, Е.Л. Насонов // Научно-практическая ревматология. – 2006. – Т. 44. – № 5. – С. 59–75.
29. Маланин, Д.А. Восстановление повреждений хряща в коленном суставе / Д.А. Маланин, В.Б. Писарев, В.В. Новочадов. – Волгоград: ООО «Волгоградское научное издательство», 2010. – 454 с. – ISBN: 978-5-98461-765-9. – Текст: непосредственный.
30. Матвеев, Р.П. Остеоартроз коленного сустава: проблемы и социальная значимость / Р.П. Матвеев, С.В. Брагина // Экология человека. – 2012. – № 9. – С. 53–62.
31. Мещеряков, В.А. Лечение гонартроза у пациентов пожилого и старческого возраста с применением обогащенной тромбоцитами плазмы: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.15 – Травматология и ортопедия / Мещеряков Владимир Александрович; ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). – Москва, 2019. – 194 с.

32. Новый способ определения диагностических параметров суставного хряща: от теории к практике (клинический пример) / Б.Д. Райков, К.М. Азаркин, А.В. Лычагин, Ю.Р. Гончарук, М.М. Липина, А.В. Гаркави, И.А. Вязанкин, Д.А. Погосян, Е.Б. Калинин, Б.М. Калинин, Т.Р. Кудрачев, Э.Э. Мурдалов, А.Р. Дрогин, Н.О. Белов, Н.Р. Ровнягина, Г.С. Будылин // Кафедра травматологии и ортопедии. – 2023. – № 1 (51). – С. 73–81.
33. Определение лечебной тактики в лечении гонартрозов / А.В. Гаркави, А.А. Тарбушкин, Д.А. Гаркави, А.Э. Пихлак // Российский медицинский журнал. – 2013. – № 6. – С. 21–25.
34. Оптическая спектроскопия в диагностике раннего остеоартрита (обзор литературы) / Ю.Р. Гончарук, М.М. Липина, А.В. Лычагин, П.С. Тимашев, И.А. Вязанкин, К.М. Азаркин // Кафедра травматологии и ортопедии. – 2022. – № 3 (49). – С. 77–89.
35. Оценка эффективности артроскопической лазерной двухрежимной синовэктомии у пациентов с хроническим синовитом коленного сустава / А.В. Лычагин, Ян Яньбинь, С.В. Иванников, Р.Х. Явлиева, М.М. Липина, Ю.Р. Гончарук, И.А. Вязанкин // Российский медицинский журнал. – 2021. – Т. 27. – № 5. – С. 445–453.
36. Рациональная фармакотерапия ревматических заболеваний. Руководство для практикующих врачей / Под общей редакцией В.А. Насоновой, Е.Л. Насонова. – Москва: Литтерра, 2003. – 506 с. – ISBN: 5-98216-001-6. – Текст: непосредственный.
37. Самбатов, Б.Г. Внутрисуставные мягкотканые повреждения коленного сустава у детей и подростков. Артроскопическая верификация диагноза: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.15 – Травматология и ортопедия / Самбатов Баир Гатапович; ФГУ Центральный научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. – Москва, 2010. – 137 с.
38. Смирнов, А.В. Рентгенологическая диагностика первичного идиопатического остеоартроза / А.В. Смирнов // РМЖ. – 2001. – № 7–8. – С. 294.

39. Собственный опыт применения поликапролактона при производстве скаффолда мениска коленного сустава / Т.Р. Кудрачев, А.В. Лычагин, М.М. Липина, Е.Б. Калинин, М.П. Елизаров, Ю.Р. Гончарук, Н.А. Аксенова, Д.И. Ларионов, М.И. Шкердина // Кафедра травматологии и ортопедии. – 2023. – № 1 (51). – С. 18–24.
40. Современные методы хондропластики и возможности стимуляции регенеративных процессов суставного хряща (Часть 1) / В.И. Тельпухов, А.В. Гаркави, А.С. Чагин [и др.] // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2022. – Т. 17. – № 3. – С. 347–352.
41. Травматология и ортопедия: учебник / А.В. Гаркави, А.В. Лычагин; ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2022. – 894 с. – ISBN 978-5-9704-6603-2. – Текст: непосредственный.
42. Шмидт, В. Оптическая спектроскопия для химиков и биологов / В. Шмидт; под ред. С.В. Савилова; пер. с англ. Н.П. Ивановский. – Москва: Техносфера, 2007. – 368 с. – ISBN: 978-5-94836-140-6. – Текст: непосредственный.
43. Эпидемиология эндопротезирования тазобедренного и коленного суставов и перипротезной инфекции в Российской Федерации / А.П. Середа, А.А. Кочиш, А.А. Черный [и др.] // Травматология и ортопедия России. – 2021. – Т. 27. – № 3. – С. 84–93.
44. Ян, Яньбинь. Лазерные технологии в лечении пациентов с хроническим синовитом коленного сустава: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.15 – Травматология и ортопедия / Ян Яньбинь; ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). – Москва, 2022. – 141 с.
45. 1H MR spectroscopy of the brain: absolute quantification of metabolites / J.F. Jansen, W.H. Backes, K. Nicolay, M.E. Kooi // Radiology. – 2006. – Vol. 240. – № 2. – P. 318–332.
46. A spectroscopic approach to imaging and quantification of cartilage lesions in human knee joints / A. Johansson, T. Sundqvist, J.H. Kuiper, P.Å. Öberg // Phys Med Biol. – 2011. – Vol. 56. – № 6. – P. 1865–1878.

47. Acoustic, mechanical and near-infrared profiling of osteoarthritic progression in bovine joints / C.P. Brown, A. Oloyede, R.W. Crawford [et al.] // *Phys Med Biol.* – 2012. – Vol. 57. – № 2. – P. 547–559.
48. Advances in imaging of osteoarthritis and cartilage / F.W. Roemer, M.D. Crema, S. Trattnig, A. Guermazi // *Radiology.* – 2011. – Vol. 260. – № 2. – P. 332–354.
49. Afara, I.O. Current State of the Application of Infrared Optical Methods for Assessing Articular Cartilage / I.O. Afara, Z. Pawlak, A. Oloyede // *J Mater Sci Eng A.* – 2011. – № 1. – P. 892–898.
50. An integral biochemical analysis of the main constituents of articular cartilage, subchondral and trabecular bone / M.R. van der Harst, P.A. Brama, C.H. van de Lest [et al.] // *Osteoarthr Cartil.* – 2004. – Vol. 12. – № 9. – P. 752–761.
51. Application of diffuse optical back reflection spectroscopy for determining articular cartilage thickness in a clinical setting / Y.A. Üncü, Ö.Ö. Ünlü, B. Gümüş [et al.] // *Int Orthop.* – 2023. – doi: 10.1007/s00264-023-05857-z.
52. Arakgi, M.E. Cochrane in CORR : Arthroscopic Surgery for Degenerative Knee Disease (Osteoarthritis Including Degenerative Meniscal Tears) / M.E. Arakgi // *Clin Orthop Relat Res.* – 2022. – Vol. 480. – № 10. – P. 1866–1873.
53. Arkill, K.P. Solute transport in the deep and calcified zones of articular cartilage / K.P. Arkill, C.P. Winlove // *Osteoarthritis Cartilage.* – 2008. – Vol. 16. – № 6. – P. 708–714.
54. Armstrong, C.G. Variations in the intrinsic mechanical properties of human articular cartilage with age, degeneration, and water content / C.G. Armstrong, V.C. Mow // *J Bone Joint Surg Am.* – 1982. – Vol. 64. – № 1. – P. 88–94.
55. Armstrong, S.J. Topographical variation within the articular cartilage and subchondral bone of the normal ovine knee joint: a histological approach / S.J. Armstrong, R.A. Read, R. Price // *Osteoarthritis Cartilage.* – 1995. – Vol. 3. – № 1. – P. 25–33.
56. Arridge, S.R. Methods in diffuse optical imaging / S.R. Arridge // *Philos Trans A Math Phys Eng Sci.* – 2011. – Vol. 369. – № 1955. – P. 4558–4576.

57. Articular cartilage defects in 1,000 knee arthroscopies / K. Hjelle, E. Solheim, T. Strand [et al.] // *Arthroscopy*. – 2002. – Vol. 18. – № 7. – P. 730–744.
58. Articular cartilage lesions in 993 consecutive knee arthroscopies / A. Arøen, S. Løken, S. Heir [et al.] // *Am J Sports Med*. – 2004. – Vol. 32. – № 1. – P. 211–215.
59. Arthroscopic debridement of the osteoarthritic knee under local anaesthesia / C.T. Krystallis, J.M. Kirkos, K.A. Papavasiliou [et al.] // *Acta Orthop Belg*. – 2004. – Vol. 70. – № 3. – P. 260–267.
60. Arthroscopic Evaluation of Knee Cartilage Using Optical Reflection Spectroscopy / J.L. Makovicka, K.A. Patel, J.D. Hassebrock [et al.] // *Arthrosc Tech*. – 2019. – Vol. 8. – № 4. – P. e399–e405.
61. Arthroscopic lavage and debridement for osteoarthritis of the knee: an evidence-based analysis / Medical Advisory Secretariat // *Ont Health Technol Assess Ser*. – 2005. – Vol. 5. – № 12. – P. 1–37.
62. Arthroscopic surgery for degenerative knee disease (osteoarthritis including degenerative meniscal tears) / D. O'Connor, R.V. Johnston, R. Brignardello-Petersen [et al.] // *Cochrane Database Syst Rev*. – 2022. – Vol. 3. – № 3. – CD014328.
63. Assessing collagen alterations in enzymatic degradation models of osteoarthritis via second harmonic generation microscopy / A.N. Jambor, E.M. Shelton, R. Kijowski [et al.] // *Osteoarthritis Cartilage*. – 2021. – Vol. 29. – № 11. – P. 1590–1599.
64. Assessing the future of diffuse optical imaging technologies for breast cancer management / B.J. Tromberg, B.W. Pogue, K.D. Paulsen [et al.] // *Med Phys*. – 2008. – Vol. 35. – № 6. – P. 2443–2451.
65. Assessment of the cerebral cortex during motor task behaviours in adults: a systematic review of functional near infrared spectroscopy (fNIRS) studies / D.R. Leff, F. Orihuela-Espina, C.E. Elwell [et al.] // *Neuroimage*. – 2011. – Vol. 54. – № 4. – P. 2922–2936.
66. Bellamy, L.J. *The Infra-red Spectra of Complex Molecules* / L.J. Bellamy. – Methuen and Co., Ltd.: London, 1954. – 31 p. – Текст: непосредственный.
67. Bergholt, M.S. *Raman Spectroscopy: Guiding Light for the Extracellular Matrix* / M.S. Bergholt, A. Serio, M.B. Albro // *Front Bioeng Biotechnol*. – 2019. – № 7. – P. 303.

68. Berry, J.L. Subchondral pathways to the superior surface of the human talus / J.L. Berry, D.A. Thaeler-Oberdoerster, A.S. Greenwald // *Foot Ankle*. – 1986. – Vol. 7. – № 1. – P. 2–9.
69. Bigio, I.J. Noninvasive, in-situ measurement of drug concentrations in tissue using optical spectroscopy / I.J. Bigio, J.R. Mourant, G. Los // *J Gravit Physiol*. – 1999. – Vol. 6. – № 1. – P. 173–175.
70. Bijlsma, J.W. Osteoarthritis: an update with relevance for clinical practice / J.W. Bijlsma, F. Berenbaum, F.P. Lafeber // *Lancet*. – 2011. – Vol. 377. – № 9783. – P. 2115–2126.
71. Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteoarthritic human hips. II. Correlation of morphology with biochemical and metabolic data / H.J. Mankin, H. Dorfman, L. Lippiello, A. Zarins // *J Bone Joint Surg Am*. – 1971. – Vol. 53. – № 3. – P. 523–537.
72. Biochemical and Morphological Abnormalities of Subchondral Bone and Their Association with Cartilage Degeneration in Spontaneous Osteoarthritis / P. Ren, H. Niu, H. Cen [et al.] // *Calcif Tissue Int*. – 2021. – Vol. 109. – № 2. – P. 179–189.
73. Biomechanische und histochemische Untersuchungen am Tibiaplateau des Menschen / M. Schünke, B. Tillmann, A. Schleicher, H. Pointner // *Anat Anz*. – 1987. – № 81. – P. 451–453.
74. Blout, E.R. Infrared Spectra of Tissues / E.R. Blout, R.C. Mellors // *Science*. – 1949. – Vol. 110. – № 2849. – P. 137–138.
75. Bone mineralization density distribution in health and disease / P. Roschger, E.P. Paschalis, P. Fratzl, K. Klaushofer // *Bone*. – 2008. – Vol. 42. – № 3. – P. 456–466.
76. Bray, M.D. Metabolic white matter diseases and the utility of MR spectroscopy / M.D. Bray, M.E. Mullins // *Radiol Clin North Am*. – 2014. – Vol. 52. – № 2. – P. 403–411.
77. Brittberg, M. Evaluation of cartilage injuries and repair / M. Brittberg, C.S. Winalski // *J Bone Joint Surg Am*. – 2003. – Vol. 85-A. – Suppl. 2. – P. 58–69.
78. Brügel, W. Einführung in die Ultrarotspektroskopie / W. Brügel. – Darmstadt: Steinkopff, 1954. – Текст: непосредственный.

79. Burr, D.B. The importance of subchondral bone in osteoarthritis / D.B. Burr // *Curr Opin Rheumatol.* – 1998. – Vol. 10. – № 3. – P. 256–262.
80. Burtscher, I.M. Proton MR spectroscopy in clinical routine / I.M. Burtscher, S. Holtås // *J Magn Reson Imaging.* – 2001. – Vol. 13. – № 4. – P. 560–567.
81. Call for standardized definitions of osteoarthritis and risk stratification for clinical trials and clinical use / V.B. Kraus, F.J. Blanco, M. Englund [et al.] // *Osteoarthritis Cartilage.* – 2015. – Vol. 23. – № 8. – P. 1233–1241.
82. Carbone, A. Review of current understanding of post-traumatic osteoarthritis resulting from sports injuries / A. Carbone, S. Rodeo // *J Orthop Res.* – 2017. – Vol. 35. – № 3. – P. 397–405.
83. Cartilage injuries: a review of 31,516 knee arthroscopies / W.W. Curl, J. Krome, E.S. Gordon [et al.] // *Arthroscopy.* – 1997. – Vol. 13. – № 4. – P. 456–460.
84. Cecil, K.M. MR spectroscopy of metabolic disorders / K.M. Cecil // *Neuroimaging Clin N Am.* – 2006. – Vol. 16. – № 1. – P. 87–116, viii.
85. Cerebral blood oxygenation changes induced by visual stimulation in humans / R. Wenzel, H. Obrig, J. Ruben [et al.] // *J Biomed Opt.* – 1996. – Vol. 1. – № 4. – P. 399–404.
86. [Change in subchondral mineralization after reconstruction of the anterior cruciate ligament of the sheep] / H. Anetzberger, M. Müller-Gerbl, M.A. Scherer // *Unfallchirurg.* – 1994. – Vol. 97. – № 12. – P. 655–660.
87. Characteristics of musculoskeletal ultrasound versus X-ray in their differential diagnosis of knee osteoarthritis / S. Chen, S. Lin, Y. Li, Y. Liu // *Int J Clin Exp Med.* – 2020. – № 13. – P. 8734–8739.
88. Characterization of early stage cartilage degradation using diffuse reflectance near infrared spectroscopy / C.P. Brown, C. Jayadev, S. Glyn-Jones [et al.] // *Phys Med Biol.* – 2011. – Vol. 56. – № 7. – P. 2299–2307.
89. Characterizing human pancreatic cancer precursor using quantitative tissue optical spectroscopy / S.Y. Lee, W.R. Lloyd, M. Chandra [et al.] // *Biomed Opt Express.* – 2013. – Vol. 4. – № 12. – P. 2828–2834.

90. Chen, Y. Development of high-sensitivity near-infrared fluorescence imaging device for early cancer detection / Y. Chen, X. Intes, B. Chance // *Biomed Instrum Technol.* – 2005. – Vol. 39. – № 1. – P. 75–85.
91. Choe, C. Depth profiles of hydrogen bound water molecule types and their relation to lipid and protein interaction in the human stratum corneum in vivo / C. Choe, J. Lademann, M.E. Darvin // *Analyst.* – 2016. – Vol. 141. – № 22. – P. 6329–6337.
92. Chondromalacia patellae: assessment with MR imaging / B.S. Yulish, J. Montanez, D.B. Goodfellow [et al.] // *Radiology.* – 1987. – Vol. 164. – № 3. – P. 763–766.
93. Clinical Optical Coherence Tomography of Early Articular Cartilage Degeneration in Patients With Degenerative Meniscal Tears / C.R. Chu, A. Williams, D. Tolliver [et al.] // *Arthritis Rheum.* – 2010. – Vol. 62. – № 5. – P. 1412–1420.
94. Clinical significance of worsening versus stable preradiographic MRI lesions in a cohort study of persons at higher risk for knee osteoarthritis / L. Sharma, M. Nevitt, M. Hochberg [et al.] // *Ann Rheum Dis.* – 2016. – Vol. 75. – № 9. – P. 1630–1636.
95. Conventional MRI-based subchondral trabecular biomarkers as predictors of knee osteoarthritis progression: data from the osteoarthritis initiative / F. Pishgar, A. Guermazi, F.W. Roemer [et al.] // *Eur. Radiol.* – 2021. – Vol. 31. – № 6. – P. 3564–3573.
96. Cutini, S. Functional near infrared optical imaging in cognitive neuroscience: an introductory review / S. Cutini, S. Basso Moro, S. Bisconti // *J Near Infrared Spectrosc.* – 2012. – Vol. 20. – № 1. – P. 75–92.
97. de Aro, A.A. Biochemical and anisotropical properties of tendons / A. A. de Aro, B. de Campos Vidal, E.R. Pimentel // *Micron.* – 2012. – Vol. 43. – № 2–3. – P. 205–214.
98. Definition and classification of early osteoarthritis of the knee / F.P. Luyten, M. Denti, G. Filardo [et al.] // *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* – 2012. – Vol. 20. – № 3. – P. 401–406.
99. Demehri, S. Diagnosis and Longitudinal Assessment of Osteoarthritis: Review of Available Imaging Techniques / S. Demehri, A. Guermazi, C.K. Kwok // *Rheum Dis Clin North Am.* – 2016. – Vol. 42. – № 4. – P. 607–620.

100. Desjardins, M.R. Incorporation of fresh and cryopreserved bone in osteochondral autografts in the horse / M.R. Desjardins, M.B. Hurtig, N.C. Palmer // *Vet Surg.* – 1991. – Vol. 20. – № 6. – P. 446–452.
101. Detection and evaluation of initial cartilage pathology in man: A comparison between MRT, arthroscopy and near-infrared spectroscopy (NIR) in their relation to initial knee pain / G.O. Hofmann, J. Marticke, R. Grosstück [et al.] // *Pathophysiology.* – 2010. – Vol. 17. – № 1. – P. 1–8.
102. Dewire, P. Subchondral plate thickness reflects tensile stress in the primate acetabulum / P. Dewire, P.A. Simkin // *J Orthop Res.* – 1996. – Vol. 14. – № 5. – P. 838–841.
103. Diagnosis of breast cancer using elastic-scattering spectroscopy: preliminary clinical results / I.J. Bigio, S.G. Bown, G. Briggs [et al.] // *J Biomed Opt.* – 2000. – Vol. 5. – № 2. – P. 221–228.
104. Diagnosis of chondral lesions of the knee joint: can MRI replace arthroscopy? A prospective study / B. Friemert, Y. Oberländer, W. Schwarz [et al.] // *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* – 2004. – Vol. 12. – № 1. – P. 58–64.
105. Diagnostic Value of 3.0T MRI in Cartilage Injury Grading of Knee Osteoarthritis / X.M. Zhang, H.Y. Tong, J. Zhang [et al.] // *J Med Imaging Health Inform.* – 2020. – Vol. 10. – № 12. – P. 2979–2984.
106. Dieler, A.C. Functional near-infrared spectroscopy for the assessment of speech related tasks / A.C. Dieler, S.V. Tupak, A.J. Fallgatter // *Brain Lang.* – 2012. – Vol. 121. – № 2. – P. 90–109.
107. Diffuse reflectance spectroscopy and Raman spectroscopy for label-free molecular characterization and automated detection of human cartilage and subchondral bone / L. Kreiß, M. Hohmann, F. Klämpfl [et al.] // *Sensors and Actuators B: Chemical.* – 2012. – Vol. 301. – № 12. – Article 127121.
108. Diffuse reflectance spectroscopy of human adenomatous colon polyps in vivo / G. Zonios, L.T. Perelman, V. Backman [et al.] // *Appl Opt.* – 1999. – Vol. 38. – № 31. – P. 6628–6637.

109. Direct comparison of contact areas, contact stress and subchondral mineralization in human hip joint specimens / R. von Eisenhart-Rothe, F. Eckstein, M. Müller-Gerbl [et al.] // *Anat Embryol (Berl)*. – 1997. – Vol. 195. – № 3. – P. 279–288.
110. Distribution and Drivers of Average Direct Cost of Osteoarthritis in Canada From 2003 to 2010 / B. Sharif, J.A. Kopec, H. Wong, A.H. Anis // *Arthritis Care Res (Hoboken)*. – 2017. – Vol. 69. – № 2. – P. 243–251.
111. Distribution of strength and mineralization in the subchondral bone plate of human tibial heads / M. Müller-Gerbl, M. Dalstra, M. Ding [et al.] // *J Biomech*. – 1998. – Vol. 31, Suppl. 1. – P. 123.
112. Dual optical and nuclear imaging in human melanoma xenografts using a single targeted imaging probe / C. Li, W. Wang, Q. Wu [et al.] // *Nucl Med Biol*. – 2006. – Vol. 33. – № 3. – P. 349–358.
113. Dynamics of Quality of Life Indicators in Patients with Chronic Synovitis of the Knee Joint after Arthroscopic Laser Double-mode Synovectomy / A. Lychagin, Ya. Yanbin, S. Ivannikov, S. Radenska-Lopovok, R. Yavlieva, V. Surin, Yu. Goncharuk, I. Vyazankin, M. Lipina // *Open Access Macedonian Journal of Medical Science*. – 2021. – № 9(B). – PP.1054–1060.
114. Early knee osteoarthritis is evident one year following anterior cruciate ligament reconstruction: a magnetic resonance imaging evaluation / A.G. Culvenor, N.J. Collins, A. Guermazi [et al.] // *Arthritis Rheumatol*. – 2015. – Vol. 67. – № 4. – P. 946–955.
115. Early osteoarthritis of the knee / H. Madry, E. Kon, V. Condello [et al.] // *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. – 2016. – Vol. 24. – № 6. – P. 1753–1762.
116. Effect of arthroscopic débridement for osteoarthritis of the knee on health-related quality of life / G.F. Dervin, I.G. Stiell, K. Rody, J. Grabowski // *J Bone Joint Surg Am*. – 2003. – Vol. 85. – № 1. – P. 10–19.
117. Effects of proteoglycan extraction on the tensile behavior of articular cartilage / M.B. Schmidt, V.C. Mow, L.E. Chun, D.R. Eyre // *J Orthop Res*. – 1990. – Vol. 8. – № 3. – P. 353–363.

118. Endoscopic detection of dysplasia in patients with Barrett's esophagus using light-scattering spectroscopy / M.B. Wallace, L.T. Perelman, V. Backman [et al.] // *Gastroenterology*. – 2000. – Vol. 119. – № 3. – P. 677–682.
119. Epidemiology of knee osteoarthritis in India and related factors / C.P. Pal, P. Singh, S. Chaturvedi [et al.] // *Indian J Orthop*. – 2016. – Vol. 50. – № 5. – P. 518–522.
120. Epidemiology of rheumatic diseases in Iran from analysis of four COPCORD studies / F. Davatchi, M. Sandoughi, N. Moghimi [et al.] // *Int J Rheum Dis*. – 2016. – Vol. 19. – № 11. – P. 1056–1062.
121. Evaluation of cartilage defects with near-infrared spectroscopy (NIR): an ex vivo study / G. Spahn, H. Plettenberg, H. Nagel [et al.] // *Med Eng Phys*. – 2008. – Vol. 30. – № 3. – P. 285–292.
122. [Evaluation of cartilage degeneration by near infrared spectroscopy (NIRS): methodical description and systematic literature review] / G. Spahn, G. Felmet, G. Baumgarten [et al.] // *Z Orthop Unfall*. – 2013. – Vol. 151. – № 1. – P. 31–37.
123. Evaluation of osteoarthritis induced by treadmill-running exercise using the modified Mankin and the new OARSI assessment system / Y.J. Lee, J.A. Park, S.H. Yang [et al.] // *Rheumatol Int*. – 2011. – Vol. 31. – № 12. – P. 1571–1576.
124. Extended range near-infrared imaging of water and oil in facial skin / M. Egawa, M. Yanai, K. Kikuchi, Y. Masuda // *Appl Spectrosc*. – 2011. – Vol. 65. – № 8. – P. 924–930.
125. Felson, D.T. Identifying and treating preclinical and early osteoarthritis / D.T. Felson, R. Hodgson // *Rheum Dis Clin North Am*. – 2014. – Vol. 40. – № 4. – P. 699–710.
126. Ferrari, M. A brief review on the history of human functional near-infrared spectroscopy (fNIRS) development and fields of application / M. Ferrari, V. Quaresima // *Neuroimage*. – 2012. – Vol. 63. – № 2. – P. 921–935.
127. Fiber-optic Raman spectroscopy of joint tissues / K.A. Esmonde-White, F.W. Esmonde-White, M.D. Morris, B.J. Roessler // *Analyst*. – 2011. – Vol. 136. – № 8. – P. 1675–1685.

128. Fischer, H. Darstellung und Anordnung der kollagenen Fibrillen in der Matrix des Gelenkknorpels: Dissertation. – Albert-Ludwigs-Universität Freiburg im Breisgau, 1988.
129. Fluorescence, reflectance, and light-scattering spectroscopy for evaluating dysplasia in patients with Barrett's esophagus / I. Georgakoudi, B.C. Jacobson, J. Van Dam [et al.] // *Gastroenterology*. – 2001. – Vol. 120. – № 7. – P. 1620–1629.
130. From acoustic segmentation to language processing: evidence from optical imaging / H. Obrig, S. Rossi, S. Telkemeyer, I. Wartenburger // *Front Neuroenergetics*. – 2010. – № 2. – P. 13.
131. Ge, Z. Identification of colonic dysplasia and neoplasia by diffuse reflectance spectroscopy and pattern recognition techniques / Z. Ge, K.T. Schomacker, N.S. Nishioka // *Applied Spectroscopy*. – 1998. – Vol. 52. – № 6. – P. 833–839.
132. Gender Differences in the Combined Effects of Cardiovascular Disease and Osteoarthritis on Progression to Functional Impairment in Older Mexican Americans / M.N. Haan, A. Lee, M.C. Odden [et al.] // *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. – 2016. – Vol. 71. – № 8. – P. 1089–1095.
133. Gender-and handedness-related differences of forebrain oxygenation and hemodynamics / F. Okada, Y. Tokumitsu, Y. Hoshi, M. Tamura // *Brain Res*. – 1993. – Vol. 601. – № 1–2. – P. 337–342.
134. Glasson, S.S. In vivo osteoarthritis target validation utilizing genetically-modified mice / S.S. Glasson // *Curr Drug Targets*. – 2007. – Vol. 8. – № 2. – P. 367–376.
135. Goldring, M.B. Emerging targets in osteoarthritis therapy / M.B. Goldring, F. Berenbaum // *Curr Opin Pharmacol*. – 2015. – № 22. – P. 51–63.
136. Goodyear, S.R. Raman Microscopy and Bone / S.R. Goodyear, R.M. Aspden // *Methods Mol Biol*. – 2019. – № 1914. – P. 651–659.
137. Grading cartilage damage with diffuse reflectance spectroscopy: Optical markers and mechanical properties / N.R. Rovnyagina, G.S. Budylin, P.V. Dyakonov, Y.M. Efremov, M.M. Lipina, Y.R. Goncharuk, E.E. Murdalov, D.A. Pogosyan, D.A. Davydov, A.A. Korneev, N.B. Serejnikova, K.A. Mikaelyan, S.A. Evlashin, V.A. Lazarev, A.V. Lychagin, P.S. Timashev, E.A. Shirshin // *J Biophotonics*. – 2023. – Vol. 16. – № 3. – P. e202200149.

138. Guidelines for testing slow acting drugs in osteoarthritis / M. Lequesne, K. Brandt, N. Bellamy [et al.] // *J Rheumatol Suppl.* – 1994. – № 41. – P. 65–71.
139. Hansen, K.A. Recruitment of tendon crimp with applied tensile strain / K.A. Hansen, J.A. Weiss, J.K. Barton // *J Biomech Eng.* – 2002. – Vol. 124. – № 1. – P. 72–77.
140. Hazeki, O. Quantitative analysis of hemoglobin oxygenation state of rat brain in situ by near-infrared spectrophotometry / O. Hazeki, M. Tamura // *J Appl Physiol* (1985). – 1988. – Vol. 64. – № 2. – P. 796–802.
141. High-affinity near-infrared fluorescent small-molecule contrast agents for in vivo imaging of prostate-specific membrane antigen / V. Humblet, R. Lapidus, L.R. Williams [et al.] // *Mol Imaging.* – 2005. – Vol. 4. – № 4. – P. 448–462.
142. High-speed collagen fiber modeling and orientation quantification for optical coherence tomography imaging / J.P. McLean, Y. Gan, T.H. Lye [et al.] // *Opt Express.* – 2019. – Vol. 27. – № 10. – P. 14457–14471.
143. Honar, A.L. Effect of the source and detector configuration on the detectability of breast cancer / A.L. Honar, K.A. Kang // *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* – 2002. – Vol. 132. – № 1. – P. 9–15.
144. Hoshi, Y. Detection of dynamic changes in cerebral oxygenation coupled to neuronal function mental work in man / Y. Hoshi, M. Tamura // *Neurosci Lett.* – 1993. – Vol. 150. – № 1. – P. 5–8.
145. How do visual, spectroscopic and biomechanical changes of cartilage correlate in osteoarthritic knee joints? / J.K. Marticke, A. Hösselbarth, K.L. Hoffmeier [et al.] // *Clin Biomech (Bristol, Avon).* – 2010. – Vol. 25. – № 4. – P. 332–340.
146. Huber, M. Anatomy, biochemistry, and physiology of articular cartilage / M. Huber, S. Trattinig, F. Lintner // *Invest Radiol.* – 2000. – Vol. 35. – № 10. – P. 573–580.
147. Human joint tissue identification by employing diffuse reflectance and auto-fluorescence spectroscopy, in combination with machine learning / R. Gunaratne, I. Monteath, R. Sheh [et al.] // *Conference on Lasers and Electro-Optics Europe & European Quantum Electronics Conference (CLEO/Europe-EQEC)*, 2017.

148. Human visual cortical function during photic stimulation monitoring by means of near-infrared spectroscopy / T. Kato, A. Kamei, S. Takashima, T. Ozaki // *J Cereb Blood Flow Metab.* – 1993. – Vol. 13. – № 3. – P. 516–520.
149. Hunter, D.J. Radiologic markers of osteoarthritis progression / D.J. Hunter, M.P. Le Graverand, F. Eckstein // *Curr Opin Rheumatol.* – 2009. – Vol. 21. – № 2. – P. 110–117.
150. ICRS Cartilage Injury Evaluation Package. – Materials of ICRS. Standards Workshop at Schloss Munchenwieler, Switzerland. – 2000. – [https://cartilage.org/content/uploads/2014/10/ICRS\\_evaluation.pdf](https://cartilage.org/content/uploads/2014/10/ICRS_evaluation.pdf)
151. [Impact of the distinct diagnostic criteria used in population-based studies on estimation of the prevalence of knee osteoarthritis] / M. Comas, M. Sala, R. Román [et al.] // *Gac Sanit.* – 2010. – Vol. 24. – № 1. – P. 28–32.
152. Importance of subchondral bone to articular cartilage in health and disease / H. Imhof, M. Breitenseher, F. Kainberger [et al.] // *Top Magn Reson Imaging.* – 1999. – Vol. 10. – № 3. – P. 180–192.
153. In situ measurement of transport between subchondral bone and articular cartilage / J. Pan, X. Zhou, W. Li [et al.] // *J Orthop Res.* – 2009. – Vol. 27. – № 10. – P. 1347–1352.
154. In vivo glucose monitoring: the clinical reality and the promise / J.C. Pickup, F. Hussain, N.D. Evans, N. Sachedina // *Biosens Bioelectron.* – 2005. – Vol. 20. – № 10. – P. 1897–1902.
155. In vivo local determination of tissue optical properties: applications to human brain / F. Bevilacqua, D. Piguet, P. Marquet [et al.] // *Appl Opt.* – 1999. – Vol. 38. – № 22. – P. 4939–4950.
156. In vivo noninvasive measurement of blood glucose by near-infrared diffuse-reflectance spectroscopy / K. Maruo, M. Tsurugi, M. Tamura, Y. Ozaki // *Appl Spectrosc.* – 2003. – Vol. 57. – № 10. – P. 1236–1244.
157. Incident myocardial infarction associated with major types of arthritis in the general population: a systematic review and meta-analysis / O. Schieir, C. Tosevski, R.H. Glazier [et al.] // *Ann Rheum Dis.* – 2017. – Vol. 76. – № 8. – P. 1396–1404.

158. Increased friction coefficient and superficial zone protein expression in patients with advanced osteoarthritis / C.P. Neu, A.H. Reddi, K. Komvopoulos [et al.] // *Arthritis Rheum.* – 2010. – Vol. 62. – № 9. – P. 2680–2687.
159. Increased hydraulic conductance of human articular cartilage and subchondral bone plate with progression of osteoarthritis / J. Hwang, W.C. Bae, W. Shieu [et al.] // *Arthritis Rheum.* – 2008. – Vol. 58. – № 12. – P. 3831–3842.
160. Influence of popliteal vein thrombosis on subsequent ambulatory venous function measured by near-infrared spectroscopy / Y. Hosoi, H. Yasuhara, H. Shigematsu [et al.] // *Am J Surg.* – 1999. – Vol. 177. – № 2. – P. 111–116.
161. Infrared Fiber-Optic Spectroscopy Detects Bovine Articular Cartilage Degeneration / V. Virtanen, E. Nippolainen, R. Shaikh [et al.] // *Cartilage.* – 2021. – Vol. 13. – 2\_suppl. – P. 285S–294S.
162. Inoue, H. Alterations in the collagen framework of osteoarthritic cartilage and subchondral bone / H. Inoue // *Int Orthop.* – 1981. – Vol. 5. – № 1. – P. 47–52.
163. Intact pericellular matrix of articular cartilage is required for unactivated discoidin domain receptor 2 in the mouse model / L. Xu, I. Polur, J.M. Servais [et al.] // *Am J Pathol.* – 2011. – Vol. 179. – № 3. – P. 1338–1346.
164. Integrated system for combined Raman spectroscopy-spectral domain optical coherence tomography / CA. Patil, J. Kalkman, D.J. Faber [et al.] // *J Biomed Opt.* – 2011. – Vol. 16. – № 1. – P. 011007.
165. Järvinen, T.L. Arthroscopic surgery for knee pain / T.L. Järvinen, G.H. Guyatt // *BMJ.* – 2016. – № 354. – P. i3934.
166. Jones, R.N. The Application of IR and Raman Spectroscopy to the Elucidation of Molecular Structure / R.N. Jones, C. Sandorfy. In: *Chemical Applications of Spectroscopy*, ed. W. West. – Interscience Publishers, New York, 1956. – PP. 247–581. – Текст: непосредственный.
167. Kaiser, N. Procedure and device for the registration of chemical reactions. German Patent, 1958; number DBP-K 36 308 IX/42 1.
168. Kellgren, J.H. Radiological assessment of osteo-arthrosis / J.H. Kellgren, J.S. Lawrence // *Ann Rheum Dis.* – 1957. – Vol. 16. – № 4. – P. 494–502.

169. Knee chondral lesions: Incidence and correlation between arthroscopic and magnetic resonance findings / D. Figueroa, R. Calvo, A. Vaisman [et al.] // *Arthroscopy*. – 2007. – Vol. 23. – № 3. – P. 312–315.
170. Knee osteoarthritis severity classification with ordinal regression module / C.W. Yong, K. Teo, B.P. Murphy [et al.] // *Multimed Tools Appl.* – 2022. – № 81. – P. 41497–41509.
171. Knee osteoarthritis: when arthroscopy can help / M. Khan, V. Khanna, A. Adili [et al.] // *Pol Arch Intern Med.* – 2018. – Vol. 128. – № 2. – P. 121–125.
172. Lamplot, J.D. The role for arthroscopic partial meniscectomy in knees with degenerative changes: a systematic review / J.D. Lamplot, R.H. Brophy // *Bone Joint J.* – 2016. – Vol. 98-B. – № 7. – P. 934–938.
173. Lane, L.B. The vascularity and remodelling of subchondrial bone and calcified cartilage in adult human femoral and humeral heads. An age- and stress-related phenomenon / L.B. Lane, A. Villacin, P.G. Bullough // *J Bone Joint Surg Br.* – 1977. – Vol. 59. – № 3. – P. 272–278.
174. Lee, S. Prevalence of knee osteoarthritis, risk factors, and quality of life: The Fifth Korean National Health And Nutrition Examination Survey / S. Lee, S.J. Kim // *Int J Rheum Dis.* – 2017. – Vol. 20. – № 7. – P. 809–817.
175. Lories, R.J. The bone–cartilage unit in osteoarthritis / R.J. Lories, F.P. Luyten // *Nat Rev Rheumatol.* – 2011. – Vol. 7. – № 1. – P. 43–49.
176. Lu, L. Near infrared spectroscopy of stearic acid adsorbed on montmorillonite / L. Lu, J. Cai, R.L. Frost // *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* – 2010. – Vol. 75. – № 3. – P. 960–963.
177. Machine learning augmented near-infrared spectroscopy: In vivo follow-up of cartilage defects / J.K. Sarin, N.C.R. Te Moller, A. Mohammadi [et al.] // *Osteoarthritis Cartilage.* – 2021. – Vol. 29. – № 3. – P. 423–432.
178. Machine learning classification of human joint tissue from diffuse reflectance spectroscopy data / R. Gunaratne, I. Monteath, J. Goncalves [et al.] // *Biomed Opt Express.* – 2019. – Vol. 10. – № 8. – P. 3889–3898.

179. Madry, H. The basic science of the subchondral bone / H. Madry, C.N. van Dijk, M. Mueller-Gerbl // *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* – 2010. – Vol. 18. – № 4. – P. 419–433.
180. Madry, H. Biological aspects of early osteoarthritis / H. Madry, F.P. Luyten, A. Facchini // *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* – 2012. – Vol. 20. – № 3. – P. 407–422.
181. Magnetic resonance observation of cartilage repair tissue (MOCART) for the evaluation of autologous chondrocyte transplantation: determination of interobserver variability and correlation to clinical outcome after 2 years / S. Marlovits, P. Singer, P. Zeller [et al.] // *Eur J Radiol.* – 2006. – Vol. 57. – № 1. – P. 16–23.
182. Magnetic resonance spectroscopy in pituitary tuberculoma / K.S. Saini, A.L. Patel, W.A. Shaikh [et al.] // *Singapore Med J.* – 2007. – Vol. 48. – № 8. – P. 783–786.
183. Mantsch, H.H. The road to medical vibrational spectroscopy--a history / H.H. Mantsch // *Analyst.* – 2013. – Vol. 138. – № 14. – P. 3863–3870.
184. Maroudas, A. Further studies on the composition of human femoral head cartilage / A. Maroudas, M. Bayliss, M. Venn // *Ann Rheum Dis.* – 1980. – Vol. 39. – № 5. – P. 514–523.
185. Mass spectrometry assays of plasma biomarkers to predict radiographic progression of knee osteoarthritis / S.Y. Ritter, J. Collins, B. Krastins [et al.] // *Arthritis Res Ther.* – 2014. – Vol. 16. – № 5. – P. 456.
186. McDevitt, C.A. Biochemistry of articular cartilage. Nature of proteoglycans and collagen of articular cartilage and their role in ageing and in osteoarthrosis / C.A. McDevitt // *Ann Rheum Dis.* – 1973. – Vol. 32. – № 4. – P. 364–378.
187. Meachim, G. Topographical variation in the calcified zone of upper femoral articular cartilage / G. Meachim, R. Allibone // *J Anat.* – 1984. – № 139, Pt. 2. – P. 341–352.
188. Measuring nanoscale viscoelastic parameters of cells directly from AFM force-displacement curves / Y.M. Efremov, W.H. Wang, S.D. Hardy [et al.] // *Sci Rep.* – 2017. – Vol. 7. – № 1. – P. 1541.

189. Melanin absorption spectroscopy: new method for noninvasive skin investigation and melanoma detection / G. Zonios, A. Dimou, I. Bassukas [et al.] // *J Biomed Opt.* – 2008. – Vol. 13. – № 1. – P. 014017.
190. Ménétrey, J. Medial meniscectomy in patients over the age of fifty: a six year follow-up study / J. Ménétrey, O. Siegrist, D. Fritschy // *Swiss Surg.* – 2002. – Vol. 8. – № 3. – P. 113–119.
191. Milz, S. Quantitative morphology of the subchondral plate of the tibial plateau / S. Milz, R. Putz // *J Anat.* – 1994. – № 185, Pt. 1. – P. 103–110.
192. Molecular analysis of the destruction of articular joint tissues by Raman spectroscopy / P. Casal-Beiroa, P. González, F.J. Blanco, J. Magalhães // *Expert Rev Mol Diagn.* – 2020. – Vol. 20. – № 8. – P. 789–802.
193. Moore, D.W. Articular Cartilage. <https://www.orthobullets.com/basic-science/9017/articular-cartilage> (дата обращения: 14.09.2023)
194. MR arthrography of acetabular cartilage delamination in femoroacetabular cam impingement / C.W. Pfirrmann, S.R. Duc, M. Zanetti [et al.] // *Radiology.* – 2008. – Vol. 249. – № 1. – P. 236–241.
195. Mueller-Lisse, U.G. [1H magnetic resonance spectroscopy of the prostate] / U.G. Mueller-Lisse, M. Scherr // *Radiologe.* – 2003. – Vol. 43. – № 6. – P. 481–488.
196. Müller-Gerbl, M. The subchondral bone plate / M. Müller-Gerbl // *Adv Anat Embryol Cell Biol.* – 1998. – № 141. – P. 1–134.
197. Near infrared spectroscopic evaluation of ligament and tendon biomechanical properties / J. Tornaiainen, A. Ristaniemi, J.K. Sarin [et al.] // *Ann Biomed Eng.* – 2019. – Vol. 47. – № 1. – P. 213–222.
198. Near-infrared (NIR) spectroscopy. A new method for arthroscopic evaluation of low grade degenerated cartilage lesions. Results of a pilot study / G. Spahn, H. Plettenberg, E. Kahl [et al.] // *BMC Musculoskelet Disord.* – 2007. – № 8. – P. 47.
199. Near infrared spectroscopy for rapid determination of Mankin score components: a potential tool for quantitative characterization of articular cartilage at surgery / I.O. Afara, I. Prasadam, H. Moody [et al.] // *Arthroscopy.* – 2014. – Vol. 30. – № 9. – P. 1146–1155.

200. Near-infrared spectroscopy for the detection of vulnerable coronary artery plaques / J.D. Caplan, S. Waxman, R.W. Nesto, J.E. Muller // *J Am Coll Cardiol.* – 2006. – Vol. 47. – № 8 Suppl. – C. 92–96.
201. Near-infrared spectroscopy in peripheral vascular disease / T.R. Cheatle, L.A. Potter, M. Cope [et al.] // *Br J Surg.* – 1991. – Vol. 78. – № 4. – P. 405–408.
202. New technology for assessing microstructural components of tendons and ligaments / S.D. Martin, N.A. Patel, S.B. Adams Jr [et al.] // *Int Orthop.* – 2003. – Vol. 27. – № 3. – P. 184–189.
203. Newberry, W.N. Blunt impact causes changes in bone and cartilage in a regularly exercised animal model / W.N. Newberry, C.D. Mackenzie, R.C. Haut // *J Orthop Res.* – 1998. – Vol. 16. – № 3. – P. 348–354.
204. Nondestructive assessment of engineered cartilage constructs using near-infrared spectroscopy / D. Baykal, O. Irrechukwu, P.C. Lin [et al.] // *Appl Spectrosc.* – 2010. – Vol. 64. – № 10. – P. 1160–1166.
205. Non-destructive evaluation of articular cartilage defects using near-infrared (NIR) spectroscopy in osteoarthritic rat models and its direct relation to Mankin score / I. Afara, I. Prasadam, R. Crawford [et al.] // *Osteoarthritis Cartilage.* – 2012. – Vol. 20. – № 11. – P. 1367–1373.
206. Non-invasive blood glucose monitoring by means of near infrared spectroscopy: investigation of long-term accuracy and stability / A. Sämann, C.H. Fischbacher, K.U. Jagemann [et al.] // *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* – 2000. – Vol. 108. – № 6. – P. 406–413.
207. Non-invasive determination of ethanol, propylene glycol and water in a multi-component pharmaceutical oral liquid by direct measurement through amber plastic bottles using Fourier transform near-infrared spectroscopy / N.W. Broad, R.D. Jee, A.C. Moffat [et al.] // *Analyst.* – 2000. – Vol. 125. – № 11. – P. 2054–2058.
208. Noninvasive in vivo monitoring of methemoglobin formation and reduction with broadband diffuse optical spectroscopy / J. Lee, N. El-Abaddi, A. Duke [et al.] // *J Appl Physiol (1985).* – 2006. – Vol. 100. – № 2. – P. 615–622.

209. Number of Persons With Symptomatic Knee Osteoarthritis in the US: Impact of Race and Ethnicity, Age, Sex, and Obesity / B.R. Deshpande, J.N. Katz, D.H. Solomon [et al.] // *Arthritis Care Res (Hoboken)*. – 2016. – Vol. 68. – № 12. – P. 1743–1750.
210. OARSI osteoarthritis cartilage histopathology assessment system: A biomechanical evaluation in the human knee / W. Waldstein, G. Perino, S.L. Gilbert [et al.] // *J Orthop Res*. – 2016. – Vol. 34. – № 1. – P. 135–140.
211. Obesity and weight loss in the treatment and prevention of osteoarthritis / H.K. Vincent, K. Heywood, J. Connelly, R.W. Hurley // *PM R*. – 2012. – Vol. 4. – 5 Suppl. – P. S59–67.
212. Observation of Periodic Fine Structure in Reflectance from Biological Tissue: A New Technique for Measuring Nuclear Size Distribution / L.T. Perelman, V. Backman, M. Wallace [et al.] // *Phys Rev Lett*. – 1998. – № 80. – P. 627.
213. Observation of variation in local brain blood flow by means of near-infrared spectroscopy. Comprehensive research report concerning medical care for children (people) with disabilities / S. Takashima, T. Kato, S. Hirano, T. Mito. – Japan. Ministry of Health and Welfare, 1992. – P. 179–181.
214. Olumegbon, I.A. Near-infrared (NIR) spectroscopic evaluation of articular cartilage: A review of current and future trends / I.A. Olumegbon, A. Oloyede, I.O. Afara // *Applied Spectroscopy Reviews*. – 2017. – Vol. 52. – № 6. – P. 541–559.
215. Optical coherence tomography of the oval window niche / T. Just, E. Lankenau, G. Hüttmann, H.W. Pau // *J Laryngol Otol*. – 2009. – Vol. 123. – № 6. – P. 603–608.
216. Optical imaging of infants neurocognitive development: recent advances and perspectives / Y. Minagawa-Kawai, K. Mori, J.C. Hebden, E. Dupoux // *Dev Neurobiol*. – 2008. – Vol. 68. – № 6. – P. 712–728.
217. Optical investigation of osteoarthritic human cartilage (ICRS grade) by confocal Raman spectroscopy: a pilot study / R. Kumar, K.M. Grønhaug, N.K. Afseth [et al.] // *Anal Bioanal Chem*. – 2015. – Vol. 407. – № 26. – P. 8067–8077.
218. Optical nerve detection by diffuse reflectance spectroscopy for feedback controlled oral and maxillofacial laser surgery / F. Stelzle, A. Zam, W. Adler [et al.] // *J Transl Med*. – 2011. – № 9. – P. 20.

219. Optical properties of normal and cancerous human skin in the visible and near-infrared spectral range / E. Salomatina, B. Jiang, J. Novak, A.N. Yaroslavsky // *J Biomed Opt.* – 2006. – Vol. 11. – № 6. – P. 064026.
220. Optical properties of selected native and coagulated human brain tissues in vitro in the visible and near infrared spectral range / A.N. Yaroslavsky, P.C. Schulze, I.V. Yaroslavsky [et al.] // *Phys Med Biol.* – 2002. – Vol. 47. – № 12. – P. 2059–2073.
221. Optical spectroscopy detects histological hallmarks of pancreatic cancer / R.H. Wilson, M. Chandra, J. Scheiman [et al.] // *Opt Express.* – 2009. – Vol. 17. – № 20. – P. 17502–17516.
222. Osteoarthritis cartilage histopathology: grading and staging / K.P. Pritzker, S. Gay, S.A. Jimenez [et al.] // *Osteoarthritis Cartilage.* – 2006. – Vol. 14. – № 1. – P. 13–29.
223. Osteoarthritis in cynomolgus macaques: a primate model of naturally occurring disease / C.S. Carlson, R.F. Loeser, M.J. Jayo [et al.] // *J Orthopaed Res.* – 1994. – Vol. 12. – № 3. – P. 331–339.
224. Outerbridge, H.K. Osteochondral defects in the knee. A treatment using lateral patella autografts / H.K. Outerbridge, R.E. Outerbridge, D.E. Smith // *Clin Orthop Relat Res.* – 2000. – № 377. – P. 145–151.
225. Painful knee but not hand osteoarthritis is an independent predictor of mortality over 23 years follow-up of a population-based cohort of middle-aged women / S. Kluzek, M.T. Sanchez-Santos, K.M. Leyland [et al.] // *Ann Rheum Dis.* – 2016. – Vol. 75. – № 10. – P. 1749–1756.
226. Palmer, G.M. Monte Carlo-based inverse model for calculating tissue optical properties. Part I: Theory and validation on synthetic phantoms / G.M. Palmer, N. Ramanujam // *Appl Opt.* – 2006. – Vol. 45. – № 5. – P. 1062–1071.
227. Palukuru, U.P. Assessment of hyaline cartilage matrix composition using near infrared spectroscopy / U.P. Palukuru, C.M. McGoverin, N. Pleshko // *Matrix Biol.* – 2014. – № 38. – P. 3–11.
228. Pearle, A.D. Basic science of articular cartilage and osteoarthritis / A.D. Pearle, R.F. Warren, S.A. Rodeo // *Clin Sports Med.* – 2005. – Vol. 24. – № 1. – P. 1–12.

229. Photoacoustic imaging in tissue engineering and regenerative medicine / B. Shrestha, F. Deluna, M.A. Anastasio [et al.] // *Tissue Eng B Rev.* – 2020. – Vol. 26. – № 1. – P. 79–102.
230. Physical Activity Predicts Higher Physical Function in Older Adults: The Osteoarthritis Initiative / J.A. Batsis, C.M. Germain, E. Vásquez [et al.] // *J Phys Act Health.* – 2016. – Vol. 13. – № 1. – P. 6–16.
231. Physico-chemical characteristics of ground meat relevant for patty forming and end product quality / A. Jurgens, J.D. de Mooij, H. Logtenberg, T.J. Verkleij // XVII th European Symposium on the Quality of Poultry Meat. – Doorwerth, Netherlands, 23–26 May 2005. – P. 151–158.
232. Prediction of chicken quality attributes by near infrared spectroscopy / D.F. Barbin, C.M. Kaminishikawahara, A.L. Soares [et al.] // *Food Chem.* – 2015. – № 168. – P. 554–560.
233. Pre-Osteoarthritis: Definition and Diagnosis of an Elusive Clinical Entity / L. Ryd, M. Brittberg, K. Eriksson [et al.] // *Cartilage.* – 2015. – Vol. 6. – № 3. – P. 156–165.
234. Prevalence of hand osteoarthritis and its relationship to hand pain and grip strength in Japan: The third survey of the ROAD study / R. Kodama, S. Muraki, H. Oka [et al.] // *Mod Rheumatol.* – 2016. – Vol. 26. – № 5. – P. 767–773.
235. Prevalence of musculoskeletal disorders and rheumatic diseases in the indigenous Qom population of Rosario, Argentina / R. Quintana, A.M. Silvestre, M. Goñi [et al.] // *Clin Rheumatol.* – 2016. – Vol. 35. – Suppl. 1. – P. 5–14.
236. Prevalence of rheumatic diseases in Raramuri people in Chihuahua, Mexico: a community-based study / D. Del Río Nájera, N. Santana, I. Peláez-Ballestas [et al.] // *Clin Rheumatol.* – 2016. – Vol. 35. – Suppl. 1. – P. 43–52.
237. Quality control and assurance in functional near infrared spectroscopy (fNIRS) experimentation / F. Orihuela-Espina, D.R. Leff, D.R. James [et al.] // *Phys Med Biol.* – 2010. – Vol. 55. – № 13. – P. 3701–3724.
238. Quantitative in vivo CT arthrography of the human osteoarthritic knee to estimate cartilage sulphated glycosaminoglycan content: correlation with ex-vivo reference

standards / J. van Tiel, M. Siebelt, M. Reijman [et al.] // *Osteoarthritis Cartilage*. – 2016. – Vol. 24. – № 6. – P. 1012–1020.

239. Quaresima, V. A brief review on the use of functional near-infrared spectroscopy (fNIRS) for language imaging studies in human newborns and adults / V. Quaresima, S. Bisconti, M. Ferrari // *Brain Lang*. – 2012. – Vol. 121. – № 2. – P. 79–89.

240. Radin, E.L. Role of subchondral bone in the initiation and progression of cartilage damage / E.L. Radin, R.M. Rose // *Clin Orthop Relat Res*. – 1986. – № 213. – P. 34–40.

241. Raman spectroscopy investigation of load-assisted microstructural alterations in human knee cartilage: Preliminary study into diagnostic potential for osteoarthritis / Y. Takahashi, N. Sugano, M. Takao [et al.] // *J Mech Behav Biomed Mater*. – 2014. – № 31. – P. 77–85.

242. Raman spectroscopy of natural bone and synthetic apatites / A.F. Khan, M. Awais, A.S. Khan [et al.] // *Appl Spectrosc Rev*. – 2013. – Vol. 48. – № 4. – P. 329–355.

243. Rapid Knee MRI Acquisition and Analysis Techniques for Imaging Osteoarthritis / A.S. Chaudhari, F. Kogan, V. Pedoia [et al.] // *J Magn Reson Imaging*. – 2020. – Vol. 52. – № 5. – P. 1321–1339.

244. Regional changes in cerebral haemodynamics as a result of a visual stimulus measured by near infrared spectroscopy / J.H. Meek, C.E. Elwell, M.J. Khan [et al.] // *Proc Biol Sci*. – 1995. – Vol. 261. – № 1362. – P. 351–356.

245. Regional difference of muscle oxygen saturation and blood volume during exercise determined by near infrared imaging device / H. Miura, K. McCully, L. Hong [et al.] // *Jpn J Physiol*. – 2001. – Vol. 51. – № 5. – P. 599–606.

246. Reflectance spectroscopy for in vivo characterization of ovarian tissue / U. Utzinger, M. Brewer, E. Silva [et al.] // *Lasers Surg Med*. – 2001. – Vol. 28. – № 1. – P. 56–66.

247. Research Progress of Raman Spectroscopy Application for Articular Cartilage and Osteoarthritis / D.Y. Ma, Y. Zhao, L.W. Shang [et al.] // *Spectrosc Spect Anal*. – 2020. – Vol. 40. – № 7. – P. 2029.

248. Rhodes, C.J. Magnetic resonance spectroscopy / C.J. Rhodes // *Sci Prog*. – 2017. – Vol. 100. – № 3. – P. 241–292.

249. Rieppo, L. Vibrational spectroscopy of articular cartilage / L. Rieppo, J. Töyräs, S. Saarakkala // *Applied Spectroscopy Reviews*. – 2016. – Vol. 52. – № 3.
250. Risks of acute coronary syndrome in patients with osteoarthritis: a nationwide population-based cohort study / W.S. Chung, H.H. Lin, F.M. Ho [et al.] // *Clin Rheumatol*. – 2016. – Vol. 35. – № 11. – P. 2807–2813.
251. Robert, H. Arthroscopic Measurement of Cartilage Lesions of the Knee Condyle: Principles and Experimental Validation of a New Method / H. Robert, J.C. Lambotte, R. Flicoteaux // *Cartilage*. – 2011. – Vol. 2. – № 3. – P. 237–245.
252. Roos, E.M. Strategies for the prevention of knee osteoarthritis / E.M. Roos, N.K. Arden // *Nat Rev Rheumatol*. – 2016. – Vol. 12. – № 2. – P. 92–101.
253. Rudin, M. In-Vivo Magnetic Resonance Spectroscopy I: Probeheads and Radiofrequency Pulses Spectrum Analysis / M. Rudin. – Springer Berlin, Heidelberg, 2012. – 284 p. – ISBN: 978-3-642-45699-2. – Текст: непосредственный.
254. Scanzello, C.R. The role of synovitis in osteoarthritis pathogenesis / C.R. Scanzello, S.R. Goldring // *Bone*. – 2012. – Vol. 51. – № 2. – P. 249–257.
255. Schaeffter, T. Magnetic Resonance Imaging and Spectroscopy / T. Schaeffter, H. Dahnke. In: Semmler W., Schwaiger M. (eds) *Molecular Imaging I. Handbook of Experimental Pharmacology*, 2008;185/1. Springer, Berlin, Heidelberg, 2008. – ISBN: 978-3-540-72717-0. – Текст: непосредственный.
256. SciPy 1.0: fundamental algorithms for scientific computing in Python / P. Virtanen, R. Gommers, T.E. Oliphant [et al.] // *Nat Methods*. – 2020. – Vol. 17. – № 3. – P. 261–272.
257. Shedding light on words and sentences: near-infrared spectroscopy in language research / S. Rossi, S. Telkemeyer, I. Wartenburger, H. Obrig // *Brain Lang*. – 2012. – Vol. 121. – № 2. – P. 152–163.
258. Shepherd, D.E. Thickness of human articular cartilage in joints of the lower limb / D.E. Shepherd, B.B. Seedhom // *Ann Rheum Dis*. – 1999. – Vol. 58. – № 1. – P. 27–34.
259. Simulation of near-infrared light absorption considering individual head and prefrontal cortex anatomy: implications for optical neuroimaging / F.B. Haeussinger, S. Heinzl, T. Hahn [et al.] // *PLoS One*. – 2011. – Vol. 6. – № 10. – P. e26377.

260. Spahn, G. Traumatic and degenerative cartilage lesions: arthroscopic differentiation using near-infrared spectroscopy (NIRS) / G. Spahn, G. Felmet, G.O. Hofmann // *Arch Orthop Trauma Surg.* – 2013. – Vol. 133. – № 7. – P. 997–1002.
261. Spahn, G. How valid is the arthroscopic diagnosis of cartilage lesions? Results of an opinion survey among highly experienced arthroscopic surgeons / G. Spahn, H.M. Klinger, G.O. Hofmann // *Arch Orthop Trauma Surg.* – 2009. – Vol. 129. – № 8. – P. 1117–1121.
262. Spatial and temporal skin blood volume and saturation estimation using a multispectral snapshot imaging camera / M. Ewerlöf, M. Larsson, E.G. Sallerud // *Proc. SPIE 10068, Imaging, Manipulation, and Analysis of Biomolecules, Cells, and Tissues XV.* – 2017. – 10068.
263. Spatially resolved reflectance spectroscopy for diagnosis of cervical precancer: Monte Carlo modeling and comparison to clinical measurements / D. Arifler, C. MacAulay, M. Follen, R. Richards-Kortum // *J Biomed Opt.* – 2006. – Vol. 11. – № 6. – P. 064027.
264. Spectroscopic diagnosis of bladder cancer with elastic light scattering / J.R. Mourant, I.J. Bigio, J. Boyer [et al.] // *Lasers Surg Med.* – 1995. – Vol. 17. – № 4. – P. 350–357.
265. Spectroscopic measurement of cartilage thickness in arthroscopy: Ex vivo validation in human knee condyles / A. Johansson, J.H. Kuiper, T. Sundqvist [et al.] // *Arthroscopy.* – 2012. – Vol. 28. – № 10. – P. 1513–1523.
266. Spectroscopic photoacoustic imaging of cartilage damage / M. Wu, B.C.J. van Teeffelen, K. Ito [et al.] // *Osteoarthritis Cartilage.* – 2021. – Vol. 29. – № 7. – P. 1071–1081.
267. Stewart, H.L. The importance of subchondral bone in the pathophysiology of osteoarthritis / H.L. Stewart, C.E. Kawcak // *Front Vet Sci.* – 2018. – № 5. – P. 178.
268. Subchondral architecture in bones of the canine shoulder / P.A. Simkin, T.F. Heston, D.J. Downey [et al.] // *J Anat.* – 1991. – № 175. – P. 213–227.

269. Subchondral bone of the human knee joint in aging and osteoarthritis / K. Yamada, R. Healey, D. Amiel [et al.] // *Osteoarthritis Cartilage*. – 2002. – Vol. 10. – № 5. – P. 360–369.
270. Systematic review of artificial intelligence tack in preventive orthopaedics: is the land coming soon? / A. Korneev, M. Lipina, A. Lychagin [et al.] // *Int Orthop*. – 2023. – Vol. 47. – № 2. – P. 393–403.
271. T2 mapping of rat patellar cartilage / A. Watrin, J.P. Ruaud, P.T. Olivier [et al.] // *Radiology*. – 2001. – Vol. 219. – № 2. – P. 395–402.
272. Tarhan, S. Magnetic resonance imaging and ultrasonographic evaluation of the patients with knee osteoarthritis: a comparative study / S. Tarhan, Z. Unlu // *Clin Rheumatol*. – 2003. – Vol. 22. – № 3. – P. 181–188.
273. The age-related changes in cartilage and osteoarthritis / Y. Li, X. Wei, J. Zhou, L. Wei // *Biomed Res Int*. – 2013. – Vol. 2013. – P. 916530.
274. The contribution of bone and cartilage to the near-infrared spectrum of osteochondral tissue / C.M. McGoverin, K. Lewis, X. Yang [et al.] // *Appl Spectrosc*. – 2014. – Vol. 68. – № 10. – P. 1168–1175.
275. The diagnostic value of intracompartmental pressure measurement, magnetic resonance imaging, and near-infrared spectroscopy in chronic exertional compartment syndrome: a prospective study in 50 patients / J.G. van den Brand, T. Nelson, E.J. Verleisdonk, C. van der Werken // *Am J Sports Med*. – 2005. – Vol. 33. – № 5. – P. 699–704.
276. The difference in joint instability affects the onset of cartilage degeneration or subchondral bone changes / K. Arakawa, K. Takahata, S. Enomoto [et al.] // *Osteoarthritis Cartilage*. – 2022. – Vol. 30. – № 3. – P. 451–460.
277. The effects of indirect blunt trauma on adult canine articular cartilage / J.M. Donohue, D. Buss, T.R. Oegema Jr, R.C. Thompson Jr // *J Bone Joint Surg Am*. – 1983. – Vol. 65. – № 7. – P. 948–957.
278. The influence of long-term treadmill exercise on bone mass and articular cartilage in ovariectomized rats / T.K. Chang, C.H. Huang, C.H. Huang [et al.] // *BMC Musculoskelet Disord*. – 2010. – № 11. – P. 185.

279. The natural history of osteochondral lesions in the ankle / C.N. van Dijk, M.L. Reilingh, M. Zengerink, C.J. van Bergen // *Instr Course Lect.* – 2010. – № 59. – P. 375–386.
280. The normal human chondro-osseous junctional region: evidence for contact of uncalcified cartilage with subchondral bone and marrow spaces / T.J. Lyons, S.F. McClure, R.W. Stoddart, J. McClure // *BMC Musculoskelet Disord.* – 2006. – № 7. – P. 52.
281. The relationship between cartilage loss on magnetic resonance imaging and radiographic progression in men and women with knee osteoarthritis / S. Amin, M.P. LaValley, A. Guermazi [et al.] // *Arthritis Rheum.* – 2005. – Vol. 52. – № 10. – P. 3152–3159.
282. The role of imaging in osteoarthritis / F.W. Roemer, F. Eckstein, D. Hayashi, A. Guermazi // *Best Pract Res Clin Rheumatol.* – 2014. – Vol. 28. – № 1. – P. 31–60.
283. The tibial subchondral plate. A scanning electron microscopic study / H. Duncan, J. Jundt, J.M. Riddle [et al.] // *J Bone Joint Surg Am.* – 1987. – Vol. 69. – № 8. – P. 1212–1220.
284. The tidemark of the chondro-osseous junction of the normal human knee joint / T.J. Lyons, R.W. Stoddart, S.F. McClure, J. McClure // *J Mol Histol.* – 2005. – Vol. 36. – № 3. – P. 207–215.
285. Ultra-short echo-time MRI detects changes in bone mineralization and water content in OVX rat bone in response to alendronate treatment / S. Anumula, S.L. Wehrli, J. Magland [et al.] // *Bone.* – 2010. – Vol. 46. – № 5. – P. 1391–1399.
286. Ultrasonic quantitation of superficial degradation of articular cartilage / S. Saarakkala, J. Töyräs, J. Hirvonen [et al.] // *Ultrasound Med Biol.* – 2004. – Vol. 30. – № 6. – P. 783–792.
287. Ultrasound in Osteoarthritis of the Hand; a Comparison to Computed Tomography and Histology / R. Husic, S. Finzel, M.H. Stradner [et al.] // *Rheumatology (Oxford).* – 2022. – Vol. 61. – № S1. – P. S173–S180.

288. Using Fourier transform IR spectroscopy to analyze biological materials / M.J. Baker, J. Trevisan, P. Bassan [et al.] // *Nat Protoc.* – 2012. – Vol. 9. – № 8. – P. 1771–1791.
289. Using Raman spectroscopy to characterize biological materials / H.J. Butler, L. Ashton, B. Bird [et al.] // *Nat Protoc.* – 2016. – Vol. 11. – № 4. – P. 664–687.
290. Vina, E.R. Epidemiology of osteoarthritis: literature update / E.R. Vina, C.K. Kwok // *Curr Opin Rheumatol.* – 2018. – Vol. 30. – № 2. – P. 160–167.
291. Visible-near-infrared spectroscopy to predict water-holding capacity in normal and pale broiler breast meat / D. Samuel, B. Park, M. Sohn, L. Wicker // *Poult Sci.* – 2011. – Vol. 90. – № 4. – P. 914–921.
292. Wang, L. MCML--Monte Carlo modeling of light transport in multi-layered tissues / L. Wang, S.L. Jacques, L. Zheng // *Comput Methods Programs Biomed.* – 1995. – Vol. 47. – № 2. – P. 131–146.
293. Wang, L.V. Photoacoustic tomography: in vivo imaging from organelles to organs / L.V. Wang, S. Hu // *Science.* – 2012. – Vol. 335. – № 6075. – P. 1458–1462.
294. What is the predictive value of MRI for the occurrence of knee replacement surgery in knee osteoarthritis? / J.P. Pelletier, C. Cooper, C. Peterfy [et al.] // *Ann Rheum Dis.* – 2013. – Vol. 72. – № 10. – P. 1594–1604.
295. Woernley, D.L. Infrared absorption curves for normal and neoplastic tissues and related biological substances / D.L. Woernley // *Cancer Res.* – 1952. – Vol. 12. – № 7. – P. 516–523.
296. X-ray image analysis for automated knee osteoarthritis detection / M. Saleem, M.S. Farid, S. Saleem, M.H. Khan // *SIViP.* – 2020. – № 14. – P. 1079–1087.
297. Yunus, M.H.M. Pathophysiological Perspective of Osteoarthritis / M.H.M. Yunus, A. Nordin, H. Kamal // *Medicina (Kaunas).* – 2020. – Vol. 56. – № 11. – P. 614.
298. Zonios, G. Skin melanin, hemoglobin, and light scattering properties can be quantitatively assessed in vivo using diffuse reflectance spectroscopy / G. Zonios, J. Bykowski, N. Kollias // *J Invest Dermatol.* – 2001. – Vol. 117. – № 6. – P. 1452–1457.

**ПРИЛОЖЕНИЕ А****Классификация дефектов хряща, предложенная  
Международным обществом восстановления хряща (ICRS)**

0 степень (норма): Хрящ без макроскопически заметных дефектов.

I степень (почти норма): Поверхностное поражение хряща.

IA. Хрящ с интактной поверхностью, но мягкий при зондировании и/или с некоторым разволокнением.

IB. Хрящ с поверхностными щелями и трещинами.

II степень (патология): Повреждение распространяется глубже, но менее, чем на 50% глубины хряща.

III степень (тяжелая патология): Дефект проникает более, чем на 50% глубины хряща, но не проникает в субхондральную кость.

IIIA: Дефекты, не достигающие кальцифицированного слоя.

IIIB: Дефекты, затрагивающие кальцифицированный слой.

IIIC: Дефекты, распространяющиеся через кальцифицированный слой, но не затрагивающие субхондральную костную пластинку.

IIID: Отек хряща (блистеры).

IV степень (тяжелая патология): Полнослойные остеохондральные поражения.

IVА: Дефект распространяется на субхондральную пластинку.

IVB: Дефект проникает в подлежащую кость.

## ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Таблица Б.1 – Классификация степеней глубины гистопатологических изменений гиалинового хряща при остеоартрите (OARSI, 2004)

Степень поражения	Градация	Критерии оценки
Степень 0: поверхность интактна, хрящ интактен	Нет	Интактный здоровый хрящ
Степень 1: поверхность интактна	1.0 Клетки интактны 1.5 Гибель хондроцитов	Матрикс: поверхностная зона интактна, отек и/или разволокнение Клетки: пролиферация (кластеры)
Степень 2: нарушение поверхности	2.0 Разволокнение через поверхностную зону 2.5 Дефекты поверхности с потерей матрикса в поверхностной зоне	+ нарушение целостности поверхностной зоны ± нарушение ориентации клеточных колонн ± уменьшение матрикса при катионном окрашивании (Сафранин О или Толуидиновый синий) в верхней 1/3 хряща (средняя зона)
Степень 3: вертикальные фиссуры	3.0 Простые фиссуры 3.5 Разветвленные /сложные фиссуры	± новообразование коллагеновых волокон (поляризационная микроскопия, окраска) ± уменьшение матрикса при катионном окрашивании (Сафранин О или Толуидиновый синий) в нижних 2/3 хряща (глубокая зона)
Степень 4: эрозии	4.0 Отслоение поверхностной зоны 4.5 Дефекты средней зоны	Формирование кист во внеклеточном матриксе, потеря матрикса хряща
Степень 5: обнажение подлежащей кости	5.0 Подлежащая кость интактна 5.5 Репаративная поверхностная реакция кости	Поверхность – склерозированная кость или репаративная ткань, включая фиброзированный хрящ
Степень 6: деформация	6.0 Краевые остеофиты 6.5 Центральные остеофиты	Кость ремоделирована. Контур суставной поверхности нарушен, в том числе имеются микропереломы