

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
САРАТОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
Н.И. ВАВИЛОВА

ПИГАРЕВА ЮЛИЯ ВЯЧЕСЛАВОВНА

**КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ
ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ОБОГАЩЕННОЙ
ТРОМБОЦИТАМИ АУТОПЛАЗМЫ ПРИ АСЕПТИЧЕСКИХ
ОСТЕОАРТРОЗАХ СОБАК**

**06.02.01 – диагностика болезней и терапия животных, патология,
онкология и морфология животных**

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Научный руководитель:
доктор ветеринарных наук,
профессор
Анников Вячеслав Васильевич

Саратов – 2016

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
-Актуальность темы исследований.....	5
-Степень разработанности проблемы.....	7
-Цель и задачи исследования.....	8
-Предмет исследования.....	9
-Научная новизна.....	9
-Теоретическая и практическая значимость работы.....	10
-Методология и методы исследования.....	10
-Положения, выносимые на защиту.....	11
-Степень достоверности и апробация результатов.....	11
-Личный вклад соискателя.....	12
-Публикации.....	12
-Объем и структура диссертации.....	12
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	13
1.1. Этиология и нозологический профиль остеоартрозов собак.....	13
1.2. Клинико-морфологические изменения в суставах при остеоартрозах.....	17
1.3. Диагностическая значимость некоторых клинико-морфо-инструментальных методов при диагностике остеоартрозов животных.....	21
1.4. Методы лечения животных с асептическими остеоартрозами.....	26
1.5. Обзор методов получения плазмы, обогащенной тромбоцитами.....	34
1.6. Теоретические и практические предпосылки к включению обогащенной тромбоцитами аутоплазмы в ветеринарную артрологию.....	37
ГЛАВА 2. МЕТОДОЛОГИЯ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	42

2.1. Структура опыта.....	42
2.2. Методология и методы исследований.....	44
2.2.1. Клинический.....	45
2.2.2. Гематологический.....	46
2.2.3. Биохимический.....	46
2.2.4. Цитологический.....	49
2.2.5. Рентгенографический	50
2.2.6. Эндоскопический.....	50
2.2.7. Ультрасонографический.....	51
2.2.8. Иммунохроматографический.....	52
2.2.9. Статистический.....	52
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВА-	
НИЙ.....	53
3.1. Методика получения плазмы, обогащенной тромбоцитами.....	53
3.2. Причины, манифестация и породная предрасположенность к остеоартрозам у собак в г.Саратове.....	54
3.3.1. Динамика клинико-гематологических изменений.....	57
3.3.2. Динамический рентгеномониторинг терапии.....	66
3.3.3 Динамика биохимических показателей сыворотки крови при лечении больных асептическими остеоартрозами животных.....	69
3.3.4. Динамика некоторых биохимических показателей синовиальной жидкости при терапии больных остеоартрозами животных обогащенной тромбоцитами аутоплазмой.....	76
3.3.5. Цитологическая характеристика синовиальной жидкости при лечении больных остеоартрозами животных.....	83
3.3.6. Внутрисуставные изменения в процессе лечения животных, больных асептическими остеоартрозами	91
3.3.7. Ультрасонографическая характеристика остеоартрозного процесса у животных до и после лечения.....	94

ГЛАВА 4. КЛИНИЧЕСКАЯ АПРОБАЦИЯ ТЕХНОЛОГИИ ХОНДРОРЕПА-	
РАЦИИ.....	98
ГЛАВА 5. ОШИБКИ И ОСЛОЖНЕНИЯ.....	104
ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	105
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	112
РЕКОМЕНДАЦИИ ПРОИЗВОДСТВУ.....	114
СПИСОК ЦИТИРУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	116
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	133

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

В настоящее время заболевания суставов достаточно широко распространены как у человека, так и у животных. По данным зарубежной литературы, самым распространенным заболеванием суставов в гуманитарной медицине является остеоартроз [25,26,28,50,58,68,96,103]. Он служит основной причиной функциональной недееспособности и инвалидности у людей [98,103].

Остеоартроз представляет собой дегенеративно-дистрофическое гетерогенное заболевание, в котором ведущим звеном патогенеза является дегенерация и деструкция суставного хряща, а также изменения субхондральной кости и воспаление [18,22,29,51,55,72,79].

К основным этиологическим факторам заболевания относят нарушение биомеханики сустава в результате травм, генетические заболевания, метаболические и эндокринные расстройства, функциональную перегрузку суставов, возраст [22,29,40,43,58,77,78,123].

В ветеринарной медицине данное заболевание также достаточно широко распространено. Количество больных животных постоянно растет, в частности, из-за отсутствия грамотной селекционной работы при разведении животных, а также несоблюдения владельцами норм кормления, приводящих к избыточной массе тела [22,40,50,58,77,78,79,96].

В настоящее время предлагаемые терапевтические подходы к лечению при остеоартрозах, в основном, симптоматические с целью уменьшения болевого синдрома, так как остеоартроз клинически ассоциирован с болью. Имеется значительный арсенал фармакологических агентов, направленных на купирование боли [18,26,28,38,44,57,65,77,88,115,118,126,130]. Однако, эти препараты не оказывают влияние на главное патогенетическое звено остеоартроза - разрушение хряща, а кроме того провоцируют серьезные побочные эффекты (эрозивно-язвенные поражения желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистые заболевания, нефропатии и гепатопатии), которые иногда даже могут привести к летальному исходу, особенно у пациентов геронтного возраста [65,88,95,116].

Различные хондропротекторы, широко представленные на ветеринарном рынке, имеют слабовыраженный репаративный эффект [15,22,40,59,82,80]. Кроме того, курс применения таких препаратов достаточно длительный, а их стоимость высока, что делает данную терапию экономически невыгодной.

Терапевтическую эффективность различного рода гомеопатических препаратов для терапии больных остеоартрозами ряд авторов вообще ставит под сомнение. Проведение оперативных вмешательств по коррекции положения компонентов сустава с целью избавления животного от боли, рекомендовано как крайняя мера, когда анальгетики и прочие препараты не оказывают заметного лечебного воздействия [26,71]. Поэтому, в ветеринарной и гуманитарной медицине продолжается поиск оптимального консервативного метода лечения при остеоартрозах, который будет обладать высокими хондрорепаративными потенциями и отсутствием побочных эффектов.

Обогащенную тромбоцитами плазму используют в различных областях медицины уже более 30 лет. Имеются незначительные данные об успешном применении этой технологии в ортопедии, однако, по неизвестным причинам широкого применения она не получила [20,24,25,39,47,48,54,61,67,89]. Терапия аутоплазмой нашла широкое применение в спортивной медицине, косметологии, дермато-венерологии, стоматологии и даже в гинекологии. За счет содержания цитокинов, факторов роста, белков, ферментов и гормонов она проявляет ярко-выраженный регенеративный эффект, способствует ускоренному заживлению ран, стимулирует митогенез клеток [2,3,7,10,11,17,21,23,34,36,61,62,84,93,99,105,109,113,128,136].

В связи с этим, представляется актуальным исследование применения интраартикулярных инъекций обогащенной тромбоцитами аутоплазмы в терапии остеоартрозов у собак. Однако, остаются невыясненными вопросы влияния аутоплазмы на организм в целом, наличия побочных эффектов, а также показания, доза и кратность применения обогащенной тромбоцитами аутоплазмы.

Степень разработанности проблемы

Вопросы этиологии и патогенеза остеоартроза у человека и животных в разное время изучали Борткевич О.П., Давыдов В.Б., Коваленко В.Н., Корж А.А., Латышева А.Г., Макушин Д.В., Матвеева Е.Л., Мищенко С.Н., Носков С.М., Сазонова С.Н., Сивордова Л.Е., Симакова Е.С., Сотников В.В., Стекольников А.А., Ступина Т.А., Филлипенко В.А., Хермиш Д., Чепелева М.В., Черных В.П., Широкова Л.Ю., Э.Меле, Cooper C., Dennison E., Edwards M., Olsson S.

Различные терапевтические подходы к лечению больных остеоартрозами описаны в работах Волосенко С.Е., Воронцова А.А., Гаррифулова Г.Г., Егоровой Е.А., Жаровой Т.А., Захарова М.М., Калиновского А.А., Кирка Р., Корж А.А., Королевой С.В., Кулешовой Я.А., Форментон М., Мальчевского В.А., Паруля О.М., Позябина С.В., Рябкова О.Б., Слесаренко Н.А., Широковой Л.Ю., Широковой О.Е., Шишкина В.И., Ягникова С.А., Якимчук Е.А., Badurski J., Bellamy N., Bensen W., Brant D. K., Chapurlat R., Chevalier X., Christiansen C., Devi G., Fleishman C., Genant H., Mathew S. T., Mickler E. A., Myers S. L., Nasonov E., Navarro F., Pollmeier M., Prasanth V. V., Reginster J.-Y., Sambrook P.N., Toulemonde C., Vinod B.

Разработкой и оптимизацией методик получения обогащенной тромбоцитами плазмы и областей ее применения занимались Ахмеров Р.Р., Багатка С.С., Богдан В.Г., Болобошко К.Б., Дейкало В.В., Ефимов Ю.В., Журавлев В.П., Зубанов П.С., Иванов П.Ю., Иванов С.Ю., Концевой А.В., Макеев О.Г., Мастыков А.Н., Мигура С.А., Улыбин А.И., Чернина Т.Н., Ямуркова Н.Ф.

Репаративные свойства обогащенной тромбоцитами аутоплазмы изучали Аршинов А.В., Батыршина С.В., Берченко Г.Н., Бодаченко К.А., Болобошко К.Б., Габидуллина Р.И., Гайнутдинова Э.Р., Галеев А.А., Глухов А.А., Демкин А.С., Дыбин С.Д., Зафранская М.М., Кесян Г.А., Крайник И.В., Макаренко А.В., Маланин Д.А., Мастыков А.Н., Носков С.М., Остроушко А.П., Ефимов Ю.В., Рушай А.К., Семенов С.Н., Стоматов А.В., Толстов Д.А., Широкова Л.Ю., Aghaloo T. L., Aguirre J. J., Alonso R., Anitua E., Daif E. T., Foster T. E., Freymiller E. G., Gerhardt M. B., Girbau

C., Kotsovilis S., Mandelbaum B. R., Markou N., Moy P. K., Muruzabal F., Nikolidakis D., Orive G., Pepelassi E., Puskas B. L., Rappl L. M., Rodeo S. A.

В связи с высокими репаративными потенциями обогащенной тромбоцитами аутоплазмы (стимуляция митогенеза, остеогенеза) нами был выбран данный метод в качестве терапии остеоартроза. Отсутствие апробированных методик получения обогащенной тромбоцитами аутоплазмы у животных, а также достоверных данных о влиянии интраартикулярных инъекций обогащенной тромбоцитами аутоплазмы при остеоартрозе на хондрорепарацию, наличии или отсутствии системных и местных ответных реакций обусловили выбор темы данного диссертационного исследования.

Цель и задачи исследования

Целью нашего исследования явилось клинико-морфо-биохимическое обоснование эффективности применения обогащенной тромбоцитами аутоплазмы при асептических остеоартрозах у собак

Для достижения поставленной цели были определены следующие задачи:

- определить манифестацию остеоартрозов собак в г.Саратов;
- разработать оптимальную методику приготовления обогащенной тромбоцитами аутоплазмы;
- с учетом клинических, рентгенологических и ультрасонографических данных оценить терапевтическую эффективность обогащенной тромбоцитами аутоплазмы при остеоартрозах у собак;
- с использованием цитологического и биохимического анализов синовиальной жидкости определить положительное влияние на ее морфо-биохимический состав аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами;
- провести динамическую оценку морфологических изменений в пораженных остеоартрозом суставах;

- на основании клинико-морфологических и инструментальных исследований определить показания к применению обогащенной тромбоцитами аутоплазмы при остеоартрозах у животных.

Предмет исследования

Терапевтическая эффективность применения обогащенной тромбоцитами аутоплазмы при терапии животных с остеоартрозами.

Научная новизна

Научная новизна диссертационного исследования заключается в представлении комплексной морфофункциональной характеристики пораженного остеоартрозом сустава на различных стадиях процесса при терапии интраартикулярными инъекциями обогащенной тромбоцитами аутоплазмы с учетом клинико - морфобиохимических, рентгенографических, ультрасонографических, эндоскопических, цитологических характеристик. Цитологические и биохимические исследования синовиальной жидкости показали, что применение интраартикулярных инъекций обогащенной тромбоцитами аутоплазмы способствует восстановлению морфологического состава синовиальной жидкости. Эндоскопическим исследованием выявлено хондропротективное влияние обогащенной тромбоцитами аутоплазмы. Гематологические исследования показали, что локальная терапия обогащенной тромбоцитами аутоплазмой при остеоартрозах не угнетает эритро-, лейко- и тромбоцитоз, не провоцирует местных или системных воспалительных или аллергических реакций. Биохимические исследования установили отсутствие гепато- и нефротоксичности при терапии больных остеоартрозами обогащенной тромбоцитами аутоплазмой. Рентгенографические и ультрасонографические исследования установили, что терапия обогащенной тромбоцитами аутоплазмой при остеоартрозе способствует восстановлению архитектоники компонентов сустава, что подтверждается клиническими данными.

Теоретическая и практическая значимость работы

Работа, проведенная с использованием широкого спектра научных методов исследования, таких как клинический осмотр, клинико-биохимический анализ крови, рентгенографическое и ультрасонографическое исследование, эндоскопическое обследование сустава, биохимический и цитологический анализ синовиальной жидкости позволило расширить представление о морфологических и биохимических процессах в суставе при остеоартрозе. Установлено, что за счет высокой концентрации цитокинов и факторов роста, обогащенная тромбоцитами аутоплазма при интраартикулярном применении обладает обезболивающим, противовоспалительным и хондрорепаративным свойством, не обладает местнораздражающим и сенсibiliзирующим эффектом.

На основании проведенных исследований научно обоснована, разработана и внедрена в ветеринарную практику методика контроля и лечения больных остеоартрозами животных.

Материалы диссертационной работы используют в своей практической работе ветеринарные врачи гг. Саратова, Пензы, Волгограда, Москвы, а также в учебном процессе на кафедрах «Болезни животных и ВСЭ» ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И.Вавилова», «Анатомия и физиология животных» ФГБОУ ВО "Волгоградский государственный аграрный университет", «Ветеринарная хирургия» ФГБОУ ВПО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э.Баумана».

Методология и методы исследования

Методологической основой научного исследования явилось использование комплексного подхода к изучаемой проблеме, заключающееся в использовании классических и современных методов исследования и сертифицированного оборудования. Отбор клинически больных животных и формирование их в подопытные группы проводили по принципу аналогов. В процессе исследования были использованы клинический, гематологический, биохимический,

иммунохроматографический рентгенологический, ультрасонографический, цитологический, эндоскопический и статистический методы исследования.

Положения, выносимые на защиту

- клинико-морфологические изменения при терапии собак с остеоартрозами;
- терапевтическая эффективность интраартикулярных инъекций обогащенной тромбоцитами аутоплазмы.

Степень достоверности и апробация результатов

Основные научные положения и выводы, а также практические предложения, изложенные в диссертационной работе, отвечают цели и задачам исследования, логически вытекают из представленного фактического материала, научно обоснованы и аргументированы. Достоверность доказана и подтверждается большим объемом гематологических, биохимических, иммунохроматографических, рентгенологических, ультрасонографических, цитологических и эндоскопических исследований, проведенных на современном уровне со статистической обработкой полученных данных.

Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на конкурсах научно-инновационных работ молодых ученых СГАУ (Саратов, 2014-2015 гг.); ежегодных научно-практических конференциях профессорско-преподавательского состава СГАУ им. Н.И. Вавилова (Саратов, 2014-2015 гг.); XIV Всероссийской выставке научно-технического творчества молодежи НТТМ (Москва, 2014 г.); XXVII-XXVIII Международных научных конференциях «Математические Методы в Технике и Технологиях - ММТТ- 27/28 (Саратов, 2014-2015 гг.); Всероссийской научно-практической конференции «Вклад молодых ученых в инновационное развитие АПК» (Пенза, 2013 г.) Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых : «Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны» (СПБ, 2014-2015гг.);IX Международной научно-практической конференции «Современные концепции научных исследований» (Москва, 2014 г.); Международной научно-

практической конференции молодых ученых и специалистов «Молодые ученые в решении актуальных проблем науки» (Троицк, 2013 г.); XXIII Московском Международном ветеринарном конгрессе; II этапе Всероссийского конкурса на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых ученых высших учебных заведений МСХ России по ПФО (Казань, 2015); II Международном ветеринарном конгрессе VETistanbul-2015 (Санкт-Петербург, 2015); Международной научно-практической конференции «Современные проблемы ветеринарной онкологии и иммунологии» (Саратов, 2014).

Личный вклад соискателя

Весь основной объем исследований выполнен автором самостоятельно. В 10 печатных работах представлено более 90 % полученных в ходе работы материалов.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 10 печатных работ, в которых отражены основные положения диссертационной работы, из них 2 в ведущих рецензируемых научных журналах, включенных в перечень ВАК Минобрнауки РФ, а так же 1 патент.

Объем и структура диссертации

Диссертация состоит из введения, шести глав, заключения; рекомендаций производству, списка цитируемой литературы и приложений; изложена на 141 странице компьютерного текста, иллюстрирована 25 рисунками, 8 таблицами, 2 диаграммами. Список литературы включает 136 источников, из них отечественных - 96, зарубежных - 40.

ГЛАВА 1 . ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Этиология и нозологический профиль остеоартрозов собак

Остеоартроз (ОА) - дегенеративно-дистрофическое заболевание суставов, характеризующееся прогрессирующим поражением суставного хряща [22,26,28,29,35,43,51,58,69,77,78,79,91]. Это гетерогенная болезнь, оценка и стадийность которой весьма затруднены [26]. В зарубежной литературе данное заболевание чаще называется остеоартрит, что подчеркивает важную роль воспалительного компонента в развитии и прогрессирование заболевания, несмотря на отсутствие классических признаков воспаления [18]. Другие зарубежные авторы считают термин «остеоартрит» наиболее предпочтительным, хоть и несовершенным [26].

С морфологической точки зрения при остеоартрозе происходит нарушение равновесия между процессами восстановления и разрушения в хряще, субхондральной кости и окружающих тканях [77,78].

Остеоартроз характеризуется стиранием хрящевой ткани вплоть до субхондрального слоя кости. Развивающееся поражение суставов клинически проявляется болью. Хроническое воспаление приводит к новообразованию костной ткани, сужению суставной щели, склерозу субхондрального слоя кости и образованию остеофитов [58].

Остеоартроз классифицируют на первичный (идиопатический), вторичный, или эрозивный (атрофический). Идиопатический остеоартроз встречается редко, фактор, вызвавший его, как правило, не обнаружен. Поражаются в основном симметричные суставы.

Вторичный остеоартроз - это наиболее частая форма остеоартроза у собак, причинами которого являются:

- расслаивающий остеохондрит;
- дисплазия тазобедренных суставов (нарушение развития как бедренного, так и тазового компонентов);
- повреждение крестовидных связок коленного сустава (надрыв, разрыв);

- повреждение коллатеральных связок коленного сустава;
- вывих сустава;
- переломы суставов;
- болезнь Легга-Кальве-Пертеса [26,58,77,78].

В 70 –80% случаев причиной хромоты собак является остеоартроз.

Другие авторы утверждают, что среди основных причин остеоартроза следует отметить возраст животных (данные различных авторов указывают на то, что указанным заболеванием страдают 20 % собак в возрасте старше 1 года и более 95 % старше 5 лет) [49,58].

Половая принадлежность животных тоже имеет значение. Литературные данные свидетельствуют о том, что заболевание чаще встречается у кобелей, нежели у сук. [22,49,58].

Данных по поводу соотношения кастрированных и некастрированных особей, страдающих остеоартрозами, мы не нашли, хотя эндокринные нарушения, происходящие у кастрированных животных (в частности, у самок) располагают к развитию остеоартроза. В гуманитарной медицине установлено, что гормональные нарушения (снижение уровня эстрогенов) у женщин являются предрасполагающим фактором в развитии остеоартроза. Рядом исследователей отмечено, что половые гормоны способны модифицировать метаболизм хрящевой ткани. Имеются данные о том, что овариоэктомия увеличивает скорость деструктивных процессов в хряще. В то же время отмечено, что и избыток эстрогенов увеличивает деструктивные процессы в хряще [43].

Вес животного также имеет немаловажное значение. Отмечено, у людей с излишним весом и нарушенной кинематикой сустава вес переносится на участки хряща, которые не способны переносить такие нагрузки, вследствие чего происходят дегенеративные изменения в хрящевой ткани. В одном из ветеринарных исследований сообщается, что тяжесть рентгенологического проявления остеоартроза была более выражена у животных, имеющих излишний вес, кормление которых не ограничивали [50]. Болезнь реже затрагивает животных, масса тела которых менее 18 кг [49]. Приблизительно 45% собак, страдающих артритом, –

это собаки крупных размеров, а более 50% среди них относятся к «гигантским» породам. Собаки средних размеров составляют 28%, а мелкие собаки – 27% [58].

В гуманитарной медицине ряд авторов отмечает, что в патогенезе остеоартроза большую роль играют дислипидемии. Так, при обследовании 130 больных у 60% из них выявлен высокий уровень окисленных липопротеидов низкой плотности (оЛПНП) и у 29% был повышен уровень антител к ним. Предполагается, что оЛПНП обладают иммуногенными свойствами, что может приводить к формированию комплексов антител с липопротеинами, запускающих механизмы аутоиммунного воспаления и повреждения клеточных мембран околоуставных тканей и хряща [72]. Наряду с этим есть сведения, что при различных артропатиях в синовиальной жидкости появляются кристаллы холестерина и жидкие кристаллы липидов, что отражает нарушение метаболизма липидов [56].

Иммунологические реакции также имеют значительное влияние в патогенезе остеоартроза. У 53% собак с дегенеративным заболеванием сустава в пробах сыворотки крови обнаружены антитела к коллагену I типа, а у 56 %- к коллагену II типа [122].

У животных существует также генетическая детерминация, например, лабрадор и немецкая овчарка более предрасположены к возникновению остеоартрита наряду с другими заболеваниями суставов, такими как фрагментация крючковидного отростка [22,58]. Также к заболеванию предрасположены ротвейлеры, чау-чау, бигли [22].

Интенсивные физические нагрузки в период роста также признаны предрасполагающим фактором [58]. Ряд авторов утверждает, что чрезмерная механическая нагрузка на суставной хрящ, возникающая при физической подготовке, может ускорить дистрофические изменения суставного хряща, связанные с уменьшением содержания гиалуронана даже без первичной патологии [22, 132]. Однако отмечено, что умеренные нагрузки способствуют развитию адаптационных изменений в суставном хряще [132].

Таким образом, остеоартроз является достаточно распространенным заболеванием среди животных, особенно среди крупных пород собак. К

заболеванию предрасполагают следующие факторы: возраст животных, масса тела, генетическая предрасположенность, наличие повреждений и травм сустава в анамнезе, нерациональное кормление и физические нагрузки в период роста и развития животного. Однако, данный момент нельзя считать до конца изученным в возрастном и породном аспектах, а также в свете урбанистических изменений у собак, страдающих гиподинамией.

1.2. Клинико-морфологические изменения в суставах при остеоартрозах

В развитие остеоартроза вовлекается главным образом хрящевая ткань. Патологический процесс нередко затрагивает также субхондральную кость и синовиальную оболочку [26].

Ведущая роль в патогенезе остеоартроза принадлежит нарушению трофики суставного хряща. Гиалиновый хрящ аваскулярен, характеризуется диффузионным типом питания и имеет два источника кровоснабжения: первый – капилляры синовиальной оболочки, второй – капилляры субхондральной кости. Особенностью хрящевой ткани является то, что в ней относительно мало клеток, которые окружены большим количеством межклеточного матрикса, который характеризуется сложной макромолекулярной организацией и занимает около 95 % от общего объема хряща. В матриксе суставного хряща коллаген составляет 50-70 %, при этом основной тип коллагена суставного хряща - коллаген II типа (95 %) [43]. Известно также, что помимо коллагена, сухой остаток хряща представлен протеогликанами (35%), гликопротеинами (10%), минеральными веществами (3%) липидами (1%) и хондроцитами (от 1 до 12%) [132].

Хондроциты участвуют в регуляции синтеза и деградации компонентов хрящевого матрикса, эти процессы в норме находятся в сбалансированном состоянии. Обладая интенсивной анаэробной метаболической активностью, хондроциты чрезвычайно чувствительны к нарушению кровоснабжения сустава [132]. В настоящее время развитие дегенеративно-дистрофических процессов при гонартрозе связывают с нарушением функции сустава и микроциркуляции в суставных концах с последующим развитием застойных явлений [51].

Повреждение хряща при остеоартрозе вызывает синовит с высвобождением медиаторов воспаления (цитокинов и металлопротеиназ), что приводит к дальнейшему повреждению хряща [22,26]. Некоторые авторы считают реактивный синовит одним из ведущих факторов, стимулирующих прогрессирующее повреждение хряща при остеоартрозе [22]. Предполагается, что к цитокинам, ответственным за стимуляцию процесса деградации хряща при остеоартрите, относятся

интерлейкины 1 и 6 (ИЛ-1, ИЛ-6) и фактор некроза опухоли α (ФНО- α). Известно, что блокада ИЛ-1 предотвращает деструкцию хряща, а блокада ФНО- α приводит к ослаблению воспаления в тканях сустава [43].

Именно с цитокинами многие связывают развитие иммунопатологических реакций при остеоартрозе [4,69]. Цитокины можно разделить на три группы:

- деструктивные (провоспалительные);
- регуляторные (в том числе противовоспалительные);
- анаболические (факторы роста).

Деструктивные цитокины, в частности интерлейкин 1, индуцируют высвобождение протеаз и угнетают синтез протеогликанов и коллагенов хондроцитами (67). Доказано, что интерлейкин 1 β подавляет синтез трансформирующего фактора роста β , препятствуя тканевой регенерации в суставах [4,69].

Прикрепление этих цитокинов к хондроциту стимулирует образование ферментов, способных осуществить деградирование всех компонентов матрикса хряща [26]. К данным ферментам относятся металлопротеиназы – коллагеназа, желатиназа, стромелизин. При нормальном метаболизме хондроциты синтезируют естественные ингибиторы этих ферментов - тканевые ингибиторы металлопротеиназ. Установлено, что образование ингибиторов металлопротеиназ при остеоартрозе существенно уменьшается или не изменяется, в то время как количество самих металлопротеиназ возрастает в 3-4 раза [22,26,43].

Травматическое повреждение хряща помимо высвобождения цитокинов, стимулирует продукцию предшественника простагландинов – арахидоновой кислоты. Ее источником считают мембраны поврежденных хондроцитов. Арахидоновая кислота быстро конвертируется в простагландины и лейкотриены. Они снижают порог болевой чувствительности, расширяют сосуды суставной капсулы, что приводит к отеку тканей сустава и повышению локальной температуры. При этом сустав не образует необходимое количество смазки, хрящ не получает необходимое количество питательных веществ, что провоцирует еще большее его повреждение. Воспалительный процесс считается вторичным по отношению к разрушению хрящевой ткани и является усугубляющим фактором [40,43].

Каскад данных реакций в суставе сопровождается ограничением подвижности, что в свою очередь ведет к атрофии мышц, увеличению массы тела и нарушению трофики хрящевой ткани [78]. Увеличение массы тела в данном случае наблюдается из-за снижения физической нагрузки.

Морфологические изменения при остеоартрозе включают в себя уменьшение толщины хряща, склероз субхондральной кости, краевой остеофитоз, воспалительные защитно-компенсаторные явления. Биохимические изменения в хряще включают потерю протеогликанов, усиление дегенеративной и синтетической активности хондроцитов, увеличение пространства между волокнами коллагена, повышенное содержание воды в хряще. Данные изменения уменьшают эластичность хряща, приводят к его фибрилляции и растрескиванию [26,111].

На первой стадии заболевания у животных проявляется хромота, которая может быть периодической или постоянной. В связи с этим собака может быть вялой, менее игривой, у нее отмечается нарушение габитуса [78].

В зависимости от периода возникновения боли выделяют следующие виды хромоты:

- *стартовая* - обусловлена выталкиванием детрита с суставных поверхностей. Возникает в начале движения, быстро исчезает и появляется вновь после продолжительной нагрузки;
- *постоянная* - связана с тем, что боль в суставе усиливается при любом движении в результате рефлекторного спазма околоуставных мышц;
- *хромота, усиливающаяся при движении* – обусловлена сдавливанием нервных окончаний вследствие прогрессирующего фиброза капсулы сустава [79].

На второй стадии болезни симптомы поражения разнообразны, могут уменьшаться после отдыха. Наблюдается ограничение подвижности сустава, движения в нем ограничены только в одном, определенном направлении. Рентгенографическое обследование в данном случае не выявляет наличия костных

разрастаний. Поверхность сустава при этом неровная, щель сустава сужена, но незначительно [78].

Третья стадия остеоартроза встречается у собак среднего возраста. Чаще всего одним из симптомов является нежелание животного подниматься по лестнице. Изменения в этой стадии остеоартроза явно выражены: хрящ более поврежден, суставная сумка утолщена и может ограничивать движение сустава, наблюдается атрофия мышц. Амплитуда движений в суставе ограничена. При изменении положения сустава наблюдается грубый хруст. Рентгенографическое обследование на этой стадии показывает наличие значительных костных разрастаний, суставная щель сужена, имеется субхондральный склероз.

Четвертая стадия остеоартроза является самой тяжелой и чаще встречается у собак геронтного возраста. Животные не способны идти и выполнять активные движения. Происходит ярко выраженная деформация пораженного сустава, его движение резко ограничивается. Суставная щель исчезает практически полностью, большая часть сустава костенеет, появляются краевые разрастания (остеофиты). Собаки теряют способность безболезненно передвигаться [78].

Из указанного выше становится ясно, что в патогенезе остеоартроза имеют место несколько звеньев. Нарушение кровоснабжения в суставе, преобладание процессов катаболизма над анаболизмом в хрящевой ткани, повреждение самого хряща – все это вызывает каскад сложных биохимических реакций, которые провоцируют нарастание воспалительной и болевой реакции в суставе. Клинически это выражается в появлении хромоты, которая усиливается с течением времени, при переходе процесса из одной стадии в другую. Возникает порочный круг, так как нарастающая гипотрофия скелетной мускулатуры и желание животного оберегать пораженную конечность приводит к дальнейшему нарушению микроциркуляции и усилению патологических процессов.

1.3. Диагностическая значимость некоторых клинико-морфо-инструментальных методов при диагностике остеоартрозов животных

Основным клиническим признаком остеоартроза является хромота, которая носит хронический характер, но в начале заболевания бывает не выражена [22,26,78]. Хромота обычно усиливается после выполнения различных упражнений, а особенно явно признаки болезни проявляются после отдыха, следующего за упражнениями. Некоторые литературные данные указывают, что в 98 % случаев хромота у животных отмечалась в утренние часы, затем уменьшалась, или исчезала совсем [22].

При пальпации пораженного сустава можно обнаружить его утолщение вследствие капсульного фиброза или образования остеофита, что обуславливает уменьшение диапазона движений сустава. Также обнаруживают суставной выпот, крепитацию и болевую реакцию [26].

Наиболее простым и легкодоступным методом диагностики остеоартроза у животных является рентгенография. Характер рентгенографических изменений при остеоартрозе отчасти зависит от того, какой сустав поражен, а также от стадии остеоартроза. Рентгенографическая диагностика остеоартроза в целом направлена на выявление сужения суставной щели, остеофитоза, субхондрального склероза, внутрисуставной минерализации с суставным выпотом и редко наблюдающегося эрозивного изменения [26,66]. Иногда при рентгенографии обнаруживают краевые дефекты костной ткани, субхондральные кисты, обызвествленные хондромы [66]. Минусом данного метода является отсутствие стойкой корреляции между клинико-рентгенологическими проявлениями заболевания, степенью выраженности хромоты и болевого синдрома [123].

Пункция сустава и анализ синовиальной жидкости имеют важное значение в дифференциальной диагностике заболеваний. Ряд авторов полагает, что типичные изменения в синовиальной жидкости нередко появляются до развития определенной клинической картины. Выполняя не только защитную, но и обменную функцию, непосредственно соприкасаясь со всеми структурами сустава, синовиальная

жидкость может дать более точную информацию об их текущем состоянии [5,55,56,60,68,79,96].

Наиболее часто оцениваются следующие свойства синовиальной жидкости:

- объем;
- цвет и прозрачность (мутность);
- вязкость;
- цитологические изменения и цитоз;
- тест образования сгустка муцина [5,26,60,79].

Объем аспирированной синовиальной жидкости зависит от размера сустава животного. Тем не менее, если удастся аспирировать более 1 мл синовиальной жидкости – то следует заподозрить патологический процесс. Синовиальная жидкость из здорового сустава, как правило, прозрачная, бледно-соломенного цвета. Появление другой окраски предполагает наличие патологии, увеличение мутности указывает на увеличение числа клеток [26].

Тест образования сгустка муцина - качественный показатель содержания гиалуроновой кислоты в синовиальной жидкости. В оценке характера муцинового сгустка приняты следующие градации – плотный, плотноватый, рыхлый, рыхлый-распадающийся, сгусток не образуется. Наличие рыхлого муцинового сгустка указывает на высокую местную воспалительную реакцию. Связано это с тем, что цепочки гиалуроновой кислоты в синовиальной жидкости становятся короче, вследствие чего снижается ее вязкость [26,79].

Одним из наиболее чувствительных критериев в дифференциальной диагностике «воспалительных» и «невоспалительных» заболеваний является цитоз. При «механической» патологии суставов цитоз невелик (менее 1000 клеток/мм³), а при воспалительных заболеваниях он значительно выше (более 1000 или 2000 клеток/мм³). Кроме общего количества клеточных элементов, существенное значение в диагностике патологии суставов, по мнению ряда авторов, имеет качественный состав синовиальной жидкости. Известно, что увеличение содержания полиморфнояденых нейтрофилов, лимфоцитов, эозинофилов и моноцитов указывает на воспалительный характер изменений суставов, а преобладание тканевых

клеточных элементов говорит о деструкции хряща и о развитии фибробластических процессов в суставе [5,26,60,79,96].

Также в синовиальной жидкости измеряют уровень глюкозы (при воспалительных заболеваниях ее концентрация понижается), общего белка (при воспалении его уровень повышается), концентрацию лактата (возрастает при септическом артрите), присутствие кристаллов [26,79,127].

В исследовании патологии суставов артроскопия является золотым стандартом. Это эндоскопический метод визуального изучения полости сустава с использованием артроскопа. Преимущество данной манипуляции состоит в ее объективности. Данный метод позволяет при помощи двух маленьких туннелей полноценно оценить изнутри состояние всех компонентов сустава и провести лечение. Артроскопия позволяет более детализованно рассмотреть хрящи, связки и сухожилия. Основным диагностическим показанием к проведению артроскопии является хромота неясной этиологии [6,8,16,70,81]. Чаще всего артроскопии у собак подвергаются локтевой, плечевой и коленный суставы, реже - запястный, плюсневый и тазобедренный [8]. Но инвазивность данного метода, дороговизна эндоскопического оборудования, анатомические особенности и необходимость анестезиологического сопровождения не всегда позволяют широко использовать данный метод на практике [8,32,119].

Сцинтиграфия - это, к сожалению, малодоступная методика, которая первая может помочь обнаружить патологию сустава. Метод основан на использовании радиоизотопов для получения изображения деятельности кости, используя гамма-камеру. Установлено, что суставы при остеоартрозе сохраняют изотоп, поэтому при сцинтиграфии можно обнаружить заболевание раньше, чем появятся рентгенографические признаки [26,43].

К дополнительному методу визуальной неинвазивной диагностики можно отнести термографию (тепловидение) - метод исследования интенсивности инфракрасного излучения тканями. При помощи его измеряется температура кожи в области суставов, которая записывается на фотобумаге в виде контурной тени су-

става. Метод позволяет объективно судить об активности воспалительного поражения суставов [26].

Ультразвуковое исследование (УЗИ-диагностика) позволяет неинвазивно исследовать мягкую, хрящевую и частично костную ткани сустава. Использование ультразвукового метода исследования с высоким разрешением позволяет оценивать структуру суставного хряща и субхондральной кости. Особую ценность представляет этот метод на ранних стадиях патологического процесса, поскольку дает возможность оценить не только органические, но и функциональные изменения сустава. На ранних стадиях развития остеоартроза происходит деградация коллагеновой сети в поверхностных слоях хряща, что приводит к разволокнению поверхности и повышенной проницаемости для воды. Ультразвуковым признаком нарушения целостности поверхностной зоны и ее функциональной несостоятельности служит появление размытости наружного контура неминерализованной части суставного хряща [1,31,32,43]. Преимуществами УЗИ являются неинвазивность, доступность, экономичность, отсутствие лучевой нагрузки [43].

Магнитно-резонансная томография (МРТ) – самый современный и высокоинформативный метод исследования с использованием ядерно-магнитного резонанса. При данном методе измеряется электромагнитный отклик ядер атомов водорода на возбуждение их определенной комбинацией электромагнитных волн в постоянном магнитном поле высокой напряженности [19]. Метод незаменим в диагностике патологических изменений мягких тканей, таких как нервные структуры, связки, мышцы. Изображения, полученные с помощью магнитно-резонансной томографии, отражают совокупность данных гистологического строения, биохимического состава суставного хряща и трабекулярной микроархитектуры субхондральной кости. Метод позволяет визуализировать изменения во внутри- и периартикулярных структурах и субхондральной кости, дифференцировать кортикальный и губчатый слои кости, гиалиновый и фиброзный суставные хрящи, синовиальную оболочку, мышцы и связки [6,32,33,135]. Минусом МРТ, как и в случае с артроскопией, является дороговизна оборудования, а в ветеринарной медицине появляются еще и анестезиологические риски, так как МРТ-

исследование возможно лишь в неподвижном состоянии, которое у животных может быть достигнуто лишь с помощью седации, которая не всегда возможна ввиду состояния пациентов (возраст, наличие системных заболеваний и др.). Тем не менее, МРТ является наиболее чувствительным, в сравнении с компьютерной томографией, методом исследования [106].

Компьютерная томография (КТ) позволяет на ранних стадиях выявить морфологические изменения в суставе. Она обеспечивает четкую визуализацию костных структур, позволяет более детально изучить анатомическое строение сустава. Метод компьютерной томографии основан на измерении и сложной компьютерной обработке разности ослабления рентгеновского излучения различными по плотности тканями [19]. При помощи КТ на ранних этапах развития остеоартроза можно обнаружить характерное снижение плотности костной ткани с относительным увеличением плотности субхондрального слоя кости [30,31].

Анализ существующей научно-практической информации о наличии значительного арсенала средств диагностики остеоартрозов животных позволяет иметь четкую картину процессов, происходящих в суставе и окружающих тканях. Основным негативным моментом следует считать дороговизну большинства методов, инвазивность и анестезиологические риски. При этом из малоинвазивных методик можно выделить анализ синовиальной жидкости. Он отличается простотой получения материала для исследования и высокой информативностью.

1.4. Методы лечения животных с асептическими остеоартрозами

Главной целью лечения остеоартроза является подавление аномальных ферментативных и дегенеративных процессов в хряще [40].

В зарубежной литературе лекарственные средства, предназначенные для терапии данного заболевания принято классифицировать на 2 группы: симптоматические медленно действующие средства и препараты-модификаторы остеоартроза. К первой группе относятся препараты-анальгетики, ко второй – препараты для профилактики, снижения и восстановления повреждений хряща (хондропротекторы и т.д.) [40]. Основой терапии являются нестероидные противовоспалительные препараты. Их действие направлено на снижение или устранение воспалительных и болевых реакций в суставе, пораженном остеоартрозом. К таким препаратам в гуманитарной медицине относятся неселективные и селективные ингибиторы циклооксигеназ (диклофенак, мелоксикам, нимесулид, кеторолак, эторикоксиб и т.д.). Их противовоспалительный эффект связан со способностью блокировать синтез простагландинов, которые являются короткоживущими соединениями, период полураспада которых составляет несколько секунд. Образуются они в очагах воспаления под действием повреждающих клеточных факторов из арахидоновой кислоты с участием ферментов циклооксигеназ. Простагландины и другие продукты окисления арахидоновой кислоты (тромбоксаны, лейкотриены) вызывают развитие лихорадки, вазодилатацию, гиперемии, приводят к тромбообразованию, повышают проницаемость сосудов, дают толчок к развитию аутоимунных процессов [57,88,65].

В настоящее время известно две изоформы циклооксигеназ – ЦОГ-1 и ЦОГ-2, но обсуждается и возможность существования третьей изоформы [65].

ЦОГ-1- это фермент, который обеспечивает нормальную функцию клеток, действуя как цитопротектор. ЦОГ-2-фермент, который усиливает и поддерживает воспаление [18,65]. Установлено, что в тканях синовиальной оболочки и хряща головки бедренной кости пораженного остеоартрозом тазобедренного сустава

увеличена концентрация ЦОГ-1, ЦОГ-2 и 5-ЛОГ [107].

Из ветеринарных препаратов к ингибиорам циклооксигеназ относят – норокарп, римадил, флексопрофен, трококсил, робенакоксиб, превикокс (фирококсиб), в европейских странах - метакам (фирококсиб, пульняшенко, кейни, N. REYMOND, Lees P) [38,65,115,118,126,130].

Гастропатии при приеме нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП) представляют собой наиболее ярко выраженную проблему, как в гуманитарной медицине, так и в ветеринарии [65,88,130]. По данным за 2007 год, у 90 % животных, получающих НПВС, отмечали осложнения со стороны желудочно-кишечного тракта разной степени выраженности. Применение таких препаратов у животных, особенно у собак геронтного возраста, может привести к неблагоприятным последствиям, вплоть до летального исхода [65,49,95]. Вероятность развития нефропатии и нарушения функции почек при приеме НПВС также должна учитываться [116].

Также *in vitro* показано, что некоторые нестероидные противовоспалительные препараты могут усиливать повреждение хряща [40]. Поэтому, применение таких препаратов должно быть только лишь после оценки соотношения пользы и риска для пациента.

Также в качестве противовоспалительных средств используют стероидные (гормональные) препараты (преднизолон, дексаметазон, метилпреднизолон, кеналог, дипроспан, ветеринарный – дексафорт). Обезболивающий эффект от интраартикулярного введения этих препаратов обусловлен противовоспалительным действием глюкокортикоидов. Чаще всего в гуманитарной медицине стероиды используют при гонартрозе. Однако, противопоказанием является отсутствие воспаления. Системное же применение этих препаратов перорально или парентерально также связано с развитием ряда неблагоприятных побочных эффектов – поражение желудочно-кишечного тракта (язвы, кровотечения, перфорации ЖКТ), гипокальцемия, остеопороз, нарушения со стороны эндокринной системы (стероидный сахарный диабет, угнетение функции надпочечников) и т.д. [44,57].

Особое внимание в терапии больных остеоартрозами уделяют хондропротекторам, препаратам, содержащим глюкозаминогликаны и хондроитин сульфат [15]. К ним относятся терафлекс, структум, из ветеринарных – артрокликан, хондрокан, гелакан, страйд, артрофит, каниагил и т.д. Они являются непосредственными источниками питательных веществ для разрушенного хрящевого матрикса. Однако эти препараты являются кормовыми добавками, относятся к препаратам замедленного действия, длительность их применения для достижения желаемого эффекта может варьироваться до полугода, или же положительный эффект может отсутствовать вообще [57,59,82,80].

Некоторые авторы предлагают использовать в лечении больных остеоартрозами также препараты на основе гиалуроновой кислоты - гиалуроновую кислоту или гиалуронат [49,121]. Особенностью химической структуры гиалуроновой кислоты является ее способность формировать гидроксильные связи между молекулами воды, карбоксильными и ацетиловыми группами, что и определяет ее влияние на структурную матрицу хряща. В организме гиалуронат натрия синтезируется синовиоцитами. С химической точки зрения это полианионный несulfатированный глюкозаминогликан, в состав которого входят чередующиеся единицы D-глюкуроновой кислоты, N-ацетиламиногликана и гиалуроната натрия. Схожесть пространственной конфигурации этих молекул с молекулами воды обеспечивает высокую степень вязкости синовиальной жидкости. Длинные цепочки молекул гиалуроната натрия заполняют межклеточные пространства синовиальной мембраны, обеспечивая связь между капсулой сустава и суставным хрящом. Гиалиновый хрящ при этом становится более эластичным и упругим. Гиалуронат натрия обладает противовоспалительными свойствами: угнетает миграцию и пролиферацию лимфоцитов; подавляет синтез простагландинов, свободных радикалов; угнетает действие интерлейкинов-1, фагоцитарную активность гранулоцитов [18,49]. Но применение таких препаратов внутривенно не позволяет достичь желаемого эффекта. Кроме того, имеются данные об их антикоагуляционном эффекте, что ограничивает их применение в связи с риском кровотечений [44,53].

Пентозана полисульфат рекомендуется некоторыми авторами при терапии остеоартроза [40,129]. Препарат состоит из повторяющихся сульфатированных цепочек ксиланопираноза. Пентозана полисульфат модулирует действие цитокинов и позволяет сохранить концентрацию протеогликанов в суставном хряще больных остеоартрозом животных. Побочным эффектом данного препарата также может стать увеличение времени свертываемости крови, что может спровоцировать различные кровотечения [40].

В гуманитарной медицине существует ряд препаратов, предназначенных для замещения синовиальной жидкости. К ним относятся: синвиск, остеонил, нолтрекс, ферматрон, ортовиск, диасиноп [57]. Нолтрекс даже рекомендован для применения у мелких непродуктивных животных [74]. Механизм их действия заключается в физическом разведении соприкасающихся и трущихся поверхностей сустава путем увеличения вязкости и упругости синовиальной жидкости, декомпрессии болевых окончаний и противовоспалительном действии путем адсорбции и инактивации ферментов воспаления и протеолиза. К их достоинствам можно отнести небольшое количество противопоказаний, выраженный противовоспалительный и анальгетический эффект, улучшение функций сустава. Однако сравнительно высокая себестоимость данных препаратов не всегда позволяет их использовать [53].

Отдельную группу препаратов, рекомендуемых при остеоартрозах, занимают так называемые «болезнь-модифицирующие препараты». Одним из таких препаратов является диацереин. Препарат представляет собой ацетилированную форму антрахинона, ингибирует экспрессию коллагеназы хондроцитами подверженных интерлейкином-1 (ИЛ-1) и стимулируют синтез простагландина E₂ с помощью хондроцитов в культуре, но не имеет никакого эффекта на фосфолипазу A₂, циклооксигеназу, или 5-липоксигеназу. Диацереин эффективен при смягчении признаков остеоартрита у людей, хотя положительный эффект обычно отмечается не ранее, чем через месяц лечения [26,43,131].

Еще одним «болезнь-модифицирующим» препаратом является стронция ранелат. Данный препарат предназначен для лечения при остеопорозе. Он разобща-

ет процессы ремоделирования костной ткани, подавляет резорбцию субхондральной кости путем снижения активности матриксных металлопротеиназ, остеопротегерина и RANK-лиганда, секретируемых костными клетками, в частности остеобластами и стимулирует синтез хрящевого матрикса *in vitro*. Кроме того, стронция ранелат может оказывать непосредственное влияние на хрящ путем восстановления баланса между процессами анаболизма и катаболизма, дисбаланс которых наблюдается при остеоартрозе [101].

В ветеринарии и гуманитарной медицине также большое значение уделяется гомеопатическим препаратам – кафорсен, хондрартрон, траумель, цель-Т [22,96]. Применение этих препаратов не исключает, а лишь дополняет другие методы терапии [22]. Также существует мнение, что данные препараты могут быть эффективным на начальных стадиях остеоартроза. Кроме того ряд авторов ставит под сомнение их эффективность [96].

Известны также методы терапии больных реактивным синовитом при остеоартрозе с применением антиэнзимных препаратов, таких как контрикал, гордокс. Механизм действия связан с ингибированием лизосомальных ферментов, способствующих разрушению хряща. Однако авторы отмечают, что эффективна такая терапия лишь на начальных стадиях остеоартрозного процесса [22].

В настоящее время еще одним направлением в устранении боли при остеоартрозе является воздействие на эндоканнабиоидную систему. Она является регулятором многих процессов в организме, в том числе регулирует болевую чувствительность [85]. Применение некоторых каннабиоидных препаратов при остеоартрозе оказало положительное влияние на хондроциты, синовиальную оболочку и метаболизм костной ткани. Однако, применение этих лекарственных средств по-прежнему вызывает дискуссии, связанные с психотропным побочным эффектом [114].

Зачастую, терапевтические подходы к лечению при остеоартрозах весьма нестандартны. К примеру, предлагается внутрисуставное введение очищенного от эндотоксинов альгината-анионного полисахарида. Установлено, что альгинат оказывает благоприятное воздействие на хондрогенез и регенерацию хряща [133].

Ветеринарные специалисты также уделяют особое внимание вопросам диетологии в терапии больных остеоартрозом животных. В настоящее время имеется множество различных кормовых добавок и готовых рационов, содержащих глюкозаминогликаны и хондроитин сульфат, которые, как утверждается, способны изменить течение остеоартроза. Такие рационы назначаются для улучшения подвижности и поддержания функций суставов после хирургических вмешательств и травм. Они применяются как для лечения, так и для профилактики заболеваний опорно-двигательного аппарата, помогая предупредить появление остеоартрозов посредством компенсации ранних гистологических и биохимических изменений у животного, предрасположенного к остеоартрозу [59,77].

Экстракт новозеландского моллюска и комплекс синергически действующих антиоксидантов в данных продуктах помогает противостоять окислительному стрессу и обеспечить защиту организма от свободных радикалов. Также в такие рационы входят длинноцепочечные жирные кислоты Омега 3, которые оказывают противовоспалительное действие на суставы. Установлено, что собаки с остеоартрозом, в рацион которых входят корма с высоким содержанием омега-3 жирных кислот, улучшают свою двигательную активность в повседневной жизни [26,58,59,77,120].

Многие ветеринарные врачи широко используют методы физиотерапии при различных остеоартропатиях. Они прибегают к термотерапии (воздействие холодом и теплом, ультразвук высокой частоты), лечебному массажу, кинезитерапии, электростимуляции, лазерной терапии, гидротерапии и акупунктуре [83]. Физиотерапия также активно используется в гуманитарной медицине [31]. Однако, данный вид терапии не может выступать в качестве основного при данной патологии, а лишь как дополнение.

В особо тяжелых случаях, на поздних стадиях, или при значительном болевом синдроме у животных с остеоартрозом прибегают к хирургическому лечению. С этой целью используют туннелизацию метафизов кости, которая показана для снижения болевых ощущений. Считается, что причиной боли является ишемия в субхондральной кости вследствие венозного стаза. После

просверливания в области метафизов кровотоков через эту область улучшается и снижается степень ишемии [26,52]. Субхондральная туннелизация суставных отделов в клинической практике у пациентов с гонартрозом показала положительный результат, заключающийся в структурной перестройке тканей коленного сустава [52].

Также, для стимуляции репарации суставного хряща некоторые авторы используют артро-медулярное шунтирование. Однако данный метод весьма инвазивен и требует наличия специальных имплантатов [71].

Применение артродеза (фиксации сустава) возможно лишь на плоских, тугоподвижных суставах, когда при терминальной стадии остеоартроза другие средства не эффективны. Однако, успех данной процедуры различен. Например, суставы запястья могут подвергнуться артродезу с благоприятным прогнозом, в то время как артродез коленного и локтевого суставов у собак довольно проблематичен [26].

Тотальная замена сустава – эндопротезирование – является идеальным способом лечения на терминальной стадии остеоартроза. К минусам данной операции относится дороговизна и наличие эндопротезов лишь для крупных пород собак [26,96].

Последнее время особый интерес ученых в вопросах репаративных возможностей тканей представляют так называемые клеточные технологии и тканевая инженерия. Одним из таких является метод лечения при артрозе у лошадей, который заключается в имплантации трехмерных хрящевых трансплантатов, полученных *in vitro* в область дефекта хряща. Исходным клеточным материалом для изготовления трансплантатов являются хондроциты, изолированные из биоптата хрящевой ткани, полученной при артроскопии. Клетки, полученные после энзиматического гидролиза биоптата, размножают в монослойной культуре до необходимой концентрации, а затем переводят в трёхмерную форму. Хорошая приживляемость и высокая степень сходства имплантата с гиалиновым хрящем показывает перспективность метода, однако сложность его воспроизведения не позволит пока внедрить его в широкую

ветеринарную практику [64]. Используется метод также в терапии сухожильно-связочного аппарата лошадей [76]. Аналогичные операции по имплантации аутологичных хондроцитов также проводятся и в гуманитарной медицине [52].

Также имеются сообщения о применении аутологичных мультипотентных мезенхимальных стромальных клетках в терапии травматических и дегенеративных заболеваний опорно-двигательного аппарата. Метод основан на способности к дифференцировке клеток во многие ткани взрослого организма. В ходе терапии выделяют стромальные клетки, как правило, из костного мозга или подкожной жировой клетчатки. Затем материал помещают в пробирки с питательной средой. Дальнейшее выращивание стволовых клеток проводят в специализированной лаборатории. Собакам с диагнозом остеоартроз локтевого сустава под контролем ультразвукового исследования проводили инъекцию в пораженный сустав суспензию стволовых клеток. Как отмечают авторы, исчезновение симптомов хромоты наступило в срок от 2 до 6 недель [37].

Таким образом, в настоящее время существует большое количество препаратов для лечения больных остеоартрозом животных, но большинство из них или имеют неблагоприятные побочные эффекты (нестероидные и стероидные противовоспалительные средства), или не дают желаемого результата (гиалуроновая кислота, хондропротекторы). Терапевтический эффект третьих (гомеопатические средства, кормовые добавки, лечебные диеты) и вовсе ставится под сомнение. Оперативное вмешательство также не всегда представляется возможным, в силу ряда причин (дороговизна и т.д.). Поэтому поиск новых высокоэффективных, недорогих и малоинвазивных методов терапии животных, больных остеоартрозом, остается актуальным.

1.5. Обзор методов получения плазмы, обогащенной тромбоцитами

Тромбоциты, или кровяные пластинки, представляют собой третий форменный элемент крови, являясь цитоплазматическими осколками гигантских клеток костного мозга – мегакариоцитов [9,92]. Обогащенная тромбоцитами плазма представляет собой продукт, получаемый из аутологичной крови и содержит большое число тромбоцитов в незначительном количестве плазмы. Доказано, что стимулирующий эффект плазмы, обогащенной тромбоцитами, проявляется при концентрации тромбоцитов в ней равном или более 1000000/мкл [3,10,11,20,24,25,46,61,87,109]

Обогащенная тромбоцитами аутологичная плазма изготавливается только из несвернувшейся крови, так как основная масса тромбоцитов в этом случае находится в кровяном сгустке и уже не может быть из него извлечена, а сыворотка содержит очень небольшое количество кровяных пластинок. Кровь для получения такой плазмы рекомендуют отбирать в емкость с цитратом натрия, который блокирует весь каскад свертывания [25].

В настоящее время существует несколько вариантов получения плазмы, обогащенной тромбоцитами.

Так, предлагается методика двухэтапного центрифугирования. Она заключается в том, что 20 мл периферической крови, взятой с антикоагулянтом (цитратом натрия) в соотношении 9:1 сначала центрифугируют на лабораторной центрифуге при 1300 об/мин 10 минут. Затем плазму, содержащую тромбоциты, отделяют от эритроцитов и лейкоцитов и повторно центрифугируют при 4000 об/мин 10 минут, что приводит к агрегации тромбоцитов на дне пробирки. После удаления бедной тромбоцитами плазмы, осадок, содержащий тромбоциты и незначительное количество эритроцитов и тромбоцитов, разводят в необходимом количестве плазмы, после чего используют для лечения [11].

Другие авторы получали обогащенную тромбоцитами плазму у человека следующим образом : из кубитальной вены производили забор 20 мл крови со стерильным раствором цитрата натрия в соотношении 9 : 1. Полученную смесь

центрифугировали при факторе разделения 450 g в течение 15 минут с соблюдением правил асептики. После центрифугирования из слоя плазмы, богатой тромбоцитами при помощи шприца и инъекционной иглы осуществляли отбор 1,4-1,6 мл обогащенной тромбоцитами плазмы [24].

Также существует методика, при которой кровь в количестве 20 мл отбирается в две моноветты (пробирки) по 10 мл с цитратом натрия в качестве антикоагулянта. Первый этап центрифугирования длится при 1500 об/мин 20 минут. После этого в пробирке определяется 4 фракции — эритроцитарный слой, лейкотромбиновый слой, тромбоцитарный слой, и плазма, не содержащая клеток крови. Далее при помощи длинной иглы, присоединенной к нейтральной пробирке Monovette, отбирают три верхних фракции. Пробирки с эритроцитами утилизируют, а пробирки с плазмой и тромбоцитами центрифугировали второй раз при 4000 об/мин 20 минут. После второго центрифугирования содержимое пробирки разделялось на две фракции: богатая тромбоцитами плазма и бедная тромбоцитами плазма [36].

Обогащенную тромбоцитами плазму можно получать при помощи сепарирования. С помощью клеточного сепаратора «Fresenius ASTEC 204» в программе PLT-1d донорского тромбоцитоплазмафереза получают 150 мл тромбоцитарной плазмы с цитозом не менее 500 тыс. в мкл. Полученная тромбоцитарная плазма подвергается дополнительной концентрации дискретным гравитационным методом с уменьшением объема в 3 раза и увеличением содержания тромбоцитов до 1500000 в мкл. В качестве антикоагулянта используется раствор АСD-А в соотношении с цельной кровью 1:9 [84].

Также существует одноэтапный способ, при котором в стерильные пластиковые пробирки, содержащие 1 мл 3,8 % раствора цитрата натрия в качестве антикоагулянта, набирают по 6 мл крови пациента. Затем проводят центрифугирование пробирок в течение 20 минут с числом оборотов 2000 в минуту. После центрифугирования в пробирках происходит разделение крови на три слоя. Два верхних слоя (за исключением нижнего — эритроцитарного) собирают шприцем и разводят в необходимом количестве плазмы [10].

Известен также способ, при котором на первом этапе центрифугирования при ускорении 250 об/мин 10 минут в осадок на дне пробирки выпадают эритроциты, как самые тяжелые форменные элементы. Надосадочную фракцию отделяют от эритроцитов и переносят в пустую пробирку. Эту пробирку центрифугируют при ускорении 1000 об/мин 10 минут и получают плазму, обогащенную тромбоцитами [62].

При одноэтапном центрифугировании кровь отбирается с специальные пробирки, содержащие специальный разделительный гель и антикоагулянт-гепарин лития. Благодаря наличию разделительного геля достигается более высокая степень очистки плазмы от эритроцитарной массы. Кровь, отобранная в данные пробирки, центрифугируется при ускорении 3500 G 10 минут [87].

Таким образом, в настоящее время существует значительное количество методик получения плазмы, обогащенной тромбоцитами. Используются различные протоколы центрифугирования (одно- и двухэтапное), различные центрифуги, сепараторы крови, пробирки с различными антикоагулянтами. Однако, все они отличаются определенной сложностью, что не позволяет широко их использовать в условиях рядовой ветеринарной клиники.

1.6. Теоретические и практические предпосылки к включению обогащенной тромбоцитами аутоплазмы в ветеринарную артрологию

Известно, что хрящевая ткань обладает незначительными регенераторными свойствами. Небольшие дефекты, как правило, заполняются гиалиновой тканью, большие - фиброзной тканью или волокнистым хрящем, который биохимически и биомеханически отличается от гиалинового [14,23].

Формирование хряща регулируется мезенхимальными стволовыми клетками (МСК), которые пролиферируют и дифференцируются в хондроциты. Среди основных индукторов хондрогенной дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток стоит отметить трансформирующий фактор роста $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), инсулиноподобный ростовой фактор I (IGF-I), костный морфогенетический белок – 2 (BMP-2) и BMP-4. Трансформирующий фактор роста TGF- $\beta 1$ играет главную роль в процессе хондрогенеза, так как изоформы TGF- $\beta 1$ могут регулировать мезенхимальную плотность – критическое значение для дифференцировки хряща. Костные морфогенетические белки (BMP) обладают свойством стимулировать синтез протеогликанов хондроцитами [43]. В эксперименте на животных, а затем и в клинической практике для лечения людей с остеоартритом, имплантация мезенхимальных стволовых клеток показала хорошие результаты [76,103]. В частности, имплантированные клетки дифференцировались в хондроциты гиалинового хряща [14,23].

Однако, при существенных плюсах этого метода, у него есть определенные минусы – процесс получения взвеси мезенхимальных стволовых клеток и методика имплантации. Эти минусы существенно ограничивают процесс применения метода как в гуманитарной медицине, так и в ветеринарной.

Учитывая это, особый интерес представляют тромбоциты, а также факторы роста, содержащиеся в них. Тромбоциты лишены ядер, но содержат альфа- и дельта-гранулы (плотные гранулы). Гранулы тромбоцитов формируются в момент их образования из мегакариоцитов и содержат множество биологически активных веществ. В α -гранулах тромбоцитов содержатся модуляторы воспаления, такие

как Р-селектин, тромбоспондин-1, 4-й фактор тромбоцитов, трансформирующий фактор роста β и RANTES (регуляторы активации процессов экспрессии и секреции нормальных Т-лимфоцитов), а также другие факторы роста - VEGF (фактор роста эндотелия сосудов), EGF (эпителиальный фактор роста), IGF (инсулиноподобный фактор роста) [33,92,109]. PDGF инициирует репарацию соединительной ткани, включая регенерацию кости, обладает мощной митогенной и ангиогенной активностью, а также регулирует деятельность других факторов роста. TGF- β регулирует хемотаксис и митогенез клеток-предшественников остеобластов и способен стимулировать депозицию коллагеновой матрицы при заживлении ран и восстановлении кости. EGF и VEGF обладают ангиогенной и митогенной активностью. IGF способен стимулировать синтез протеогликанов хондроцитами и значительно угнетать катаболические процессы в суставном хряще. Входящие в состав ОТП адгезивные молекулы (фибрин, фибронектин и витронектин) необходимы для миграции, адгезии клеток и стимуляции синтеза коллагена [10,11,24,109].

Вышеуказанные биологические агенты вызывают миграцию и пролиферацию мезенхимальных клеток-предшественников, формирование новой соединительной ткани, стимулируют неоангиогенез и регенерацию не только твердых, но и мягких тканей [11].

На сегодняшний день имеется определенный положительный опыт использования обогащенной тромбоцитами аутоплазмы в спортивной медицине, хирургии, стоматологии, ортопедии, косметологии и в акушерско-гинекологической практике [2,3,7,17,20,21,24,25,34,39,46,54,61,62,67,89,90,93,109].

В ветеринарной медицине существуют лишь единичные работы, описывающие опыт применения обогащенной тромбоцитами аутоплазмы в лечении животных с офтальмологическими и ортопедическими патологиями [47,48,87].

Отмечено, что введение обогащенной тромбоцитами аутоплазмы для заполнения костных карманов при хирургическом лечении больных пародонтитом, по сравнению с традиционным хирургическим протоколом, достоверно улучшает процесс восстановления тканей пародонта [34,113].

При хирургическом лечении пациентов с несрастающимися переломами и ложными суставами конечностей применение обогащенной тромбоцитами аутоплазмы в сочетании с биокомпозиционным материалом коллаплан у 97,8% пациентов достигнута успешная консолидация отломков и сокращение ее сроков в сравнении с группой контроля. Это говорит о наличии остеогенных свойств у плазмы, обогащенной тромбоцитами [39]. Аналогичный эффект был достигнут в эксперименте на кроликах, где обогащенная тромбоцитами плазма в сочетании с лиофилизированной минерализованной костью и сублимированной деминерализованной костью способствовала увеличению плотности ткани костного дефекта [97].

Применение обогащенной тромбоцитами плазмы в сочетании с коллапланом или аутокостью при пластике ложных суставов и инфицированных костных полостей также показало свою высокую эффективность [67].

Установлено, что введение аутологичной обогащенной тромбоцитами аутоплазмы вдоль линии разлома при переломе симфизиса челюсти повышает регенерацию костной ткани [105].

Введение трансформирующего фактора роста β интраартикулярно при экспериментальном артрозе височно-нижнечелюстного сустава у кроликов показало явный хондропротективный эффект в сравнении с введением изотонического раствора [91].

В эксперименте на животных при лечении больных хроническим остеомиелитом наибольший эффект получен при комбинированном использовании струйной санации и обогащенной тромбоцитами плазмы, заключающийся в сокращении сроков купирования воспалительного процесса, стимуляции регенераторных процессов у животных в опытной группе по сравнению с контрольной [20].

Применение обогащенной тромбоцитами плазмы в локальной терапии (внутрисуставное введение) у больных гонартрозом вызывает выраженную положительную динамику функционального состояния коленных суставов у лиц с начальными проявлениями остеоартроза. При типичном гонартрозе II–III рентгенологических стадий позитивное влияние обогащенной тромбоцитами плазмы

кратковременно и отмечается только в ранний одномесячный период наблюдения. Однако у пациентов с тяжелым гонартрозом, осложненным синовитом, лечение оказалось неэффективным [90].

Локальная терапия язвенных дефектов кожи и трофических язв обогащенной тромбоцитами плазмы показала явный терапевтический эффект, позволивший достичь полного заживления крупного язвенно-некротического дефекта кожи [11,46,61,107]. Орошение и инъекции обогащенной тромбоцитами плазмы также провоцировали усиленную регенерацию обширного травматического дефекта кожи, в то время как реконструктивная операция была невозможна [136]. Даже при лечении ран у людей с нарушением иннервации в результате травмы спинного мозга, обогащенная тромбоцитами аутоплазма показала значительный регенеративный эффект [128].

В эксперименте на крысах с применением обогащенной тромбоцитами плазмы при заживлении ран было показано, что данный метод лечения приводит к более быстрому формированию рубца, стимулирует процессы коллагенизации, эпидермизации, васкуляризации и созревания вновь образованной соединительной ткани [20].

Применение обогащенной тромбоцитами плазмы у больных с остеоартрозом тазобедренного сустава, осложненных бурситами, по сравнению с лечением глюкокортикоидами, в отдаленный период наблюдения показало наилучшие результаты, связанные с улучшением всех клинических показателей, в отличие от лечения глюкокортикоидами (дипроспан) [89].

Помимо этого, имеются данные о бактериостатическом эффекте обогащенной факторами роста плазмой в отношении штаммов золотистого и эпидермального стафилококка. Это создает предпосылки для применения технологии в лечении инфекционных осложнений [99].

Суммируя эти данные, можно сделать вывод, что остеоартроз – весьма сложная в диагностическом и терапевтическом аспекте патология. Имеющийся арсенал консервативных средств терапии не всегда удовлетворяет результатом. Поиск новых, альтернативных методов терапии данного заболевания весьма ак-

туален. Лечение плазмой, обогащенной тромбоцитами, является очень перспективным направлением и может с успехом начать применяться в ветеринарной медицине, в частности, в ветеринарной ортопедии для лечения животных с остеоартрозом.

Однако, отсутствие возможности в условиях рядовой клиники готовить обогащенную тромбоцитами плазму и самой технологии (путь введения, кратность, объем, консервация т.д.) лечения, сдерживают возможности применения данного метода в ветеринарии.

ГЛАВА 2. МЕТОДОЛОГИЯ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1. Структура опыта

Научные исследования по теме диссертации проводились на базе кафедры «Болезни животных и ВСЭ» Саратовского государственного аграрного университета им. Н.И. Вавилова, ветеринарной клиники доктора Анникова В.В., часть исследований выполнялись в УНТЦ «Ветеринарного госпиталя» (г. Саратов) и в отделении лабораторной диагностики ФГБУ "СарНИИТО" Министерства здравоохранения Российской Федерации с 2013 по 2015 г. Вся работа по теме диссертации отображена на Рисунке 1. Предметом исследований явилась терапевтическая эффективность применения обогащенной тромбоцитами аутоплазмы при терапии животных с остеоартрозами.

Материалом для исследования явились клинически больные животные (собаки) с остеоартрозом коленного сустава 1-4 степеней в количестве 120 голов, а также 15 клинически здоровых интактных собак без суставной патологии, подобранные в группы по принципу аналогов. Собакам интактной группы проводилось биохимическое исследование синовиальной жидкости с целью определения границ референсных величин. Возраст исследуемых животных от 2 до 8 лет, живая масса от 15 до 40 кг. Содержание животных – домашне-выгульное, кормление – готовые фабричные корма.

В дальнейшем собаки с каждой степенью остеоартроза были разделены на две группы по принципу аналогов. В качестве терапии животным опытной группы интраартикулярно вводили обогащенную тромбоцитами аутоплазму в количестве от 0,5 мл у мелких животных до 1 мл у крупных, кратность процедур - от 3 до 5 раз в зависимости от степени поражения сустава. Животным контрольной группы вводили препарат «Бонхарен» (производитель «Bayer AG», Германия) внутривенно в дозе в дозе 0,05 мл/кг массы тела согласно официально утвержденной инструкции.

Схема опыта

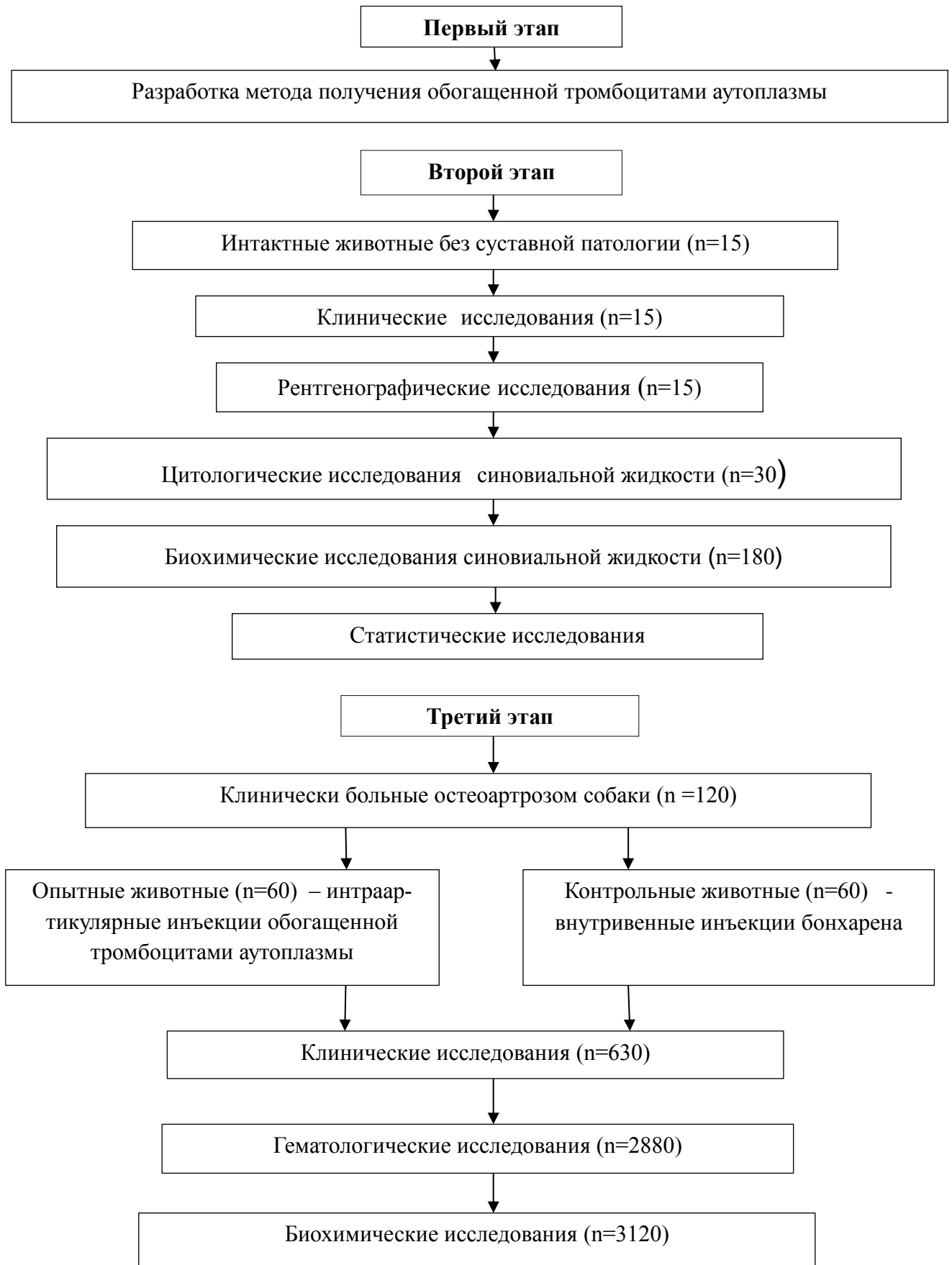




Рисунок 1 - Схема опыта.

Материалом для исследования послужили пробы крови и синовиальной жидкости, рентгенограммы и ультрасонограммы пораженных суставов, эндоскопические записи.

Также материалом для исследования послужила обогащенная тромбоцитами аутоплазма, приготовленная по оригинальной методике [63].

2.2 Методология и методы исследований

Для решения поставленных задач в научной работе нами были использованы следующие методы исследований: клинический, гематологический, биохимический, иммунохроматографический, цитологический, рентгенографический, эндоскопический, ультрасонографический, статистический.

Гематологические и биохимические исследования крови, ультрасонографические, цитологические исследования выполняли при первичном

приеме, а также в конце терапии. Рентгенографические и ультразвукографические исследования суставов проводили дважды - до начала терапии и после ее окончания. Биохимическое исследование синовиальной жидкости проводили у интактных животных дважды с интервалом 30 дней и у собак с остеоартрозом коленного сустава до начала терапии и по ее окончанию.

Эндоскопическое исследование суставов выполняли у пациентов выборочно до начала терапии и после ее окончания.

При выполнении работы было проведено 645 клинических, 2880 гематологических, 3120 биохимических, 270 цитологических, 255 рентгенографических, 240 ультразвукографических, 32 эндоскопических исследования.

2.2.1. Клинический

Клиническое обследование животных выполняли при первичном приеме, а также в процессе лечения общепринятыми в ветеринарии методами. Проводили осмотр, термометрию, собирали анамнестические данные, проводили аускультацию сердечного толчка и легочных полей [13].

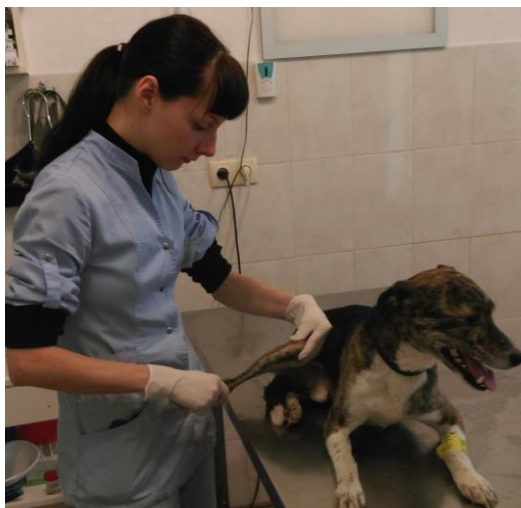


Рисунок 2 - Клиническое обследование больного животного. Пальпация коленного сустава.

При ортопедическом обследовании обращали внимание на постановку пораженной конечности, увеличение сустава в размерах. Проводили пробную проводку животного, определяя характер и интенсивность хромоты. Пальпаторно

определяли объем движений в пораженном суставе, наличие или отсутствие крепитации, болевую реакцию (Рисунок 2). Для исключения патологий центральной и периферической нервной системы проводили неврологическое обследование [94].

2.2.2. Гематологический

Для проведения гематологических исследований у животных отбирали кровь до лечения и на 30 сутки терапии путем пункции вены предплечья. Общий анализ крови выполняли на полуавтоматическом гематологическом анализаторе Mindray BC-2300 с использованием стандартного набора оригинальных реактивов (Рисунок 3).



Рисунок 3 - Выполнение общего анализа крови на гематологическом анализаторе.

При этом определяли количество лейкоцитов, эритроцитов, уровень гемоглобина, гематокрит, количество тромбоцитов [12]. После подсчета форменных элементов в камере Горяева составляли лейкограмму, СОЭ определяли на аппарате Панченкова.

2.2.3. Биохимический

Биохимическое исследование сыворотки крови выполняли до начала и на 30 сутки по окончании терапии на биохимическом анализаторе Sinnova BS-3000P с использованием набора реактивов «Диакон ДДС» и «Витал» (Рисунок 4).

Для получения сыворотки у животных выполняли аспирацию крови в количестве 4 мл путем пункции вены предплечья, отстаивали ее в течение часа, затем центрифугировали.

В сыворотке крови определяли уровень билирубина, печеночных ферментов (аланинаминотрансфераза, аспартатаминотрансфераза, щелочная фосфатаза), холестерина, общего белка и его фракций (альбумин), глюкозы, показатели работы почек (креатинин, мочевины), мочевую кислоту [12,41,42]. Наличие или отсутствие С-реактивного белка и ревматоидного фактора определяли при помощи латексных тест-систем «Эколаб».



Рисунок 4 – Выполнение биохимического анализа сыворотки крови.

Для биохимического исследования синовиальной жидкости ее отбирали у животных из коленного сустава с соблюдением правил асептики и антисептики путем артроцентеза до лечения и по окончании курса терапии.

Место пункции сустава выбривали и обрабатывали 5% спиртовым раствором иода или 96 % спиртом от центра к периферии. Процедуру выполняют без релаксации. Пункцию коленного сустава проводили, уложив животное набок таким образом, чтобы пунктируемый сустав находился сверху параллельно поверхности стола. Пораженный сустав сгибали под углом 90°. Введение иглы в сустав выполняли у медиального края связки коленной чашки между коленной чашкой и местом прикрепления связки к шероховатости большеберцовой кости. Иглу вводили под прямым углом через кожу, продвинув в вентрокаудальном

направлении, при этом отмечали «провал иглы» и отсутствие беспокойства животного, что подтверждало правильное положение иглы в полости сустава.



Рисунок 5 – Артроцентез коленного сустава собаки и аспирация синовиальной жидкости.

После аспирации синовиальной жидкости к ней добавляли 0,1 мл гепарина для предупреждения свертывания [45].

При биохимическом исследовании синовиальной жидкости определяли уровень общего белка, глюкозы, сульфатированных глюкозаминогликанов, сиаловых и уроновых кислот, определяли сульфатно-уроновый коэффициент.

Уроновые кислоты определяли по методу Дише в модификации Биттера и Муир [100]. Метод основан на том, что при нагревании с серной кислотой уроновые кислоты претерпевают дегидратацию и декарбоксилирование; образующийся при дегидратации 5-карбоксивульфурол дает цветные реакции с карбазолом, что используют для спектрофотометрического определения уроновых кислот. В качестве стандарта используют хондроитинсульфат АС, гепарин или глюкуроновую кислоту.

Для определения соотношения в гликозаминогликанах сульфатированных и несulfатированных форм определяли концентрацию сульфатов [27]. Принцип метода определения сульфатной серы состоит в том, что реагируя с сульфатом пробы, хлористый барий дает нерастворимое соединение – сульфат бария. При

осуществлении реакции в коллоидном растворе образуется устойчивая взвесь, оптическая плотность которой пропорциональна концентрации сульфатов.

Сиаловые кислоты определяли по методу Warren [134]. В этом методе для обнаружения сиаловых кислот служит характерная цветная реакция с тиобарбитуровой кислотой после предварительного окисления (с л-аминобензальдегидом в присутствии концентрированной соляной кислоты (прямая реакция Эрлиха). В качестве контроля используют N-ацетилнейраминовою кислоту.

Общее количество белка определяли биуретовым методом, используя наборы фирмы Vital Diagnostic (Санкт-Петербург). Наборами той же фирмы проводили определение глюкозы на анализаторе Stat Fax® 1904 Plus (США).

2.2.4. Цитологический

Для проведения цитологического исследования синовиальную жидкость сразу после отбора центрифугировали, затем готовили мазок на предметном стекле, сушили, окрашивали набором реактивов «Лейкодив 200», и просматривали под иммерсионной системой биологического микроскопа Unico при увеличении 1500 раз [45]. При этом определяли клеточный состав синовиальной жидкости (Рисунок 6).

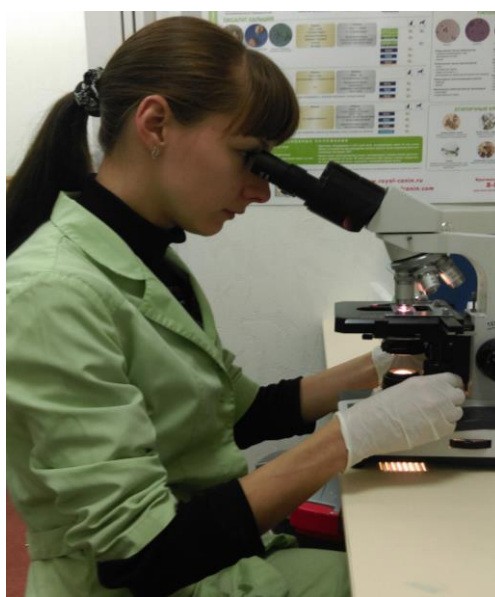


Рисунок 6 – Подсчет синовиоцитограммы.

2.2.5. Рентгенографический

Рентгенографическое исследование выполняли до лечения для верификации диагноза, а также в конце терапии на цифровом рентгеновском аппарате «Вател-1». При исследовании коленных суставов с использовали медиолатеральную и каудокраниальную проекции. Кроме того в отдельных случаях использовали косую (медиа-латеральную проекцию) с максимальной ротацией плюсны наружу [86].

2.2.6. Эндоскопический

Артроскопия у больных животных проводилась дважды: до постановки диагноза и в конце лечения для оценки эффективности терапии. Исследование проводилось на оборудовании фирмы KarlStorz артроскопом диаметром 2,7 мм.

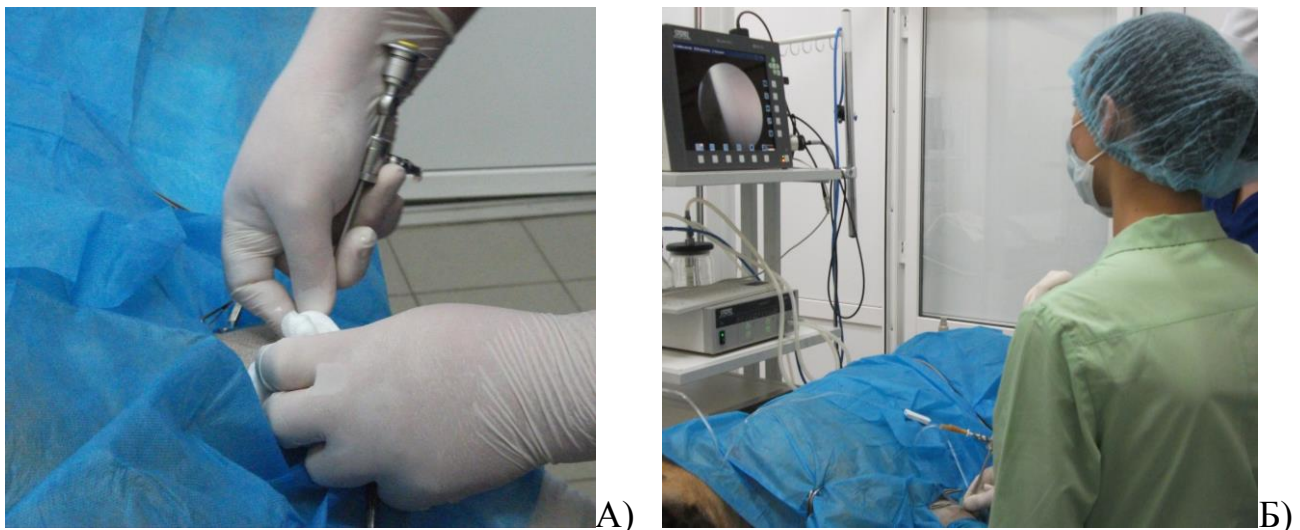


Рисунок 7 А, Б – Введение гильзы артроскопа в коленный сустав и проведение диагностической артроскопии.

Животных, находящихся под нейролептаналгезией, укладывали в дорсо-вентральное положение. Место для пункции сустава выбиралось, затем двукратно обрабатывалось 5% спиртовым раствором иода от центра к периферии. Пункцию сустава и введение гильзы артроскопа производили с латеральной стороны. В полость сустава во время проведения артроскопии для улучшения манипулирования и визуализации вводилось небольшое количество стерильного

физиологического раствора. Состояние суставного хряща классифицировали по шкале [81,124].

2.2.7. Ультрасонографический

Ультрасонографические исследования проводили до начала терапии (до постановки диагноза) и в конце терапии (для контроля лечения) на аппарате Esaote MyLab 20 Plus в В-режиме. При этом использовали линейный и микроконвексный датчики с частотой выше 10 МГц. Исследование включало в себя визуализацию хряща, синовиальной оболочки, субхондральной кости, связок и менисков [1,32,35].

Во время исследования животное без нейролептаналгезии фиксировалось на столе в положении лежа на боку, исследуемым суставом вверх.

Коленный сустав исследовали в проксимально-дистальном направлении, датчики располагали продольно и поперечно (Рисунок 8).



Рисунок 8 – Выполнение ультрасонографического исследования коленного сустава на аппарате Esaote MyLab 20 Plus.

После обследования краниальных, каудальных и латеральных отделов сустава животное поворачивают так, чтобы исследуемый сустав находился снизу, что обеспечивает успешную визуализацию медиальных отделов. Во время исследования осуществляли сгибание и разгибание сустава, а также наружную и внутреннюю ротации.

2.2.8. Иммунохроматографический

Иммунохроматографический метод исследования выполняли всем животным при первичном приеме методом экспресс-диагностики при помощи тест-систем фирмы VetExpert (ООО «ВетЭксперт»). При этом исключали болезнь Лаймы, эрлихиоз, бруцеллез, лептоспироз.

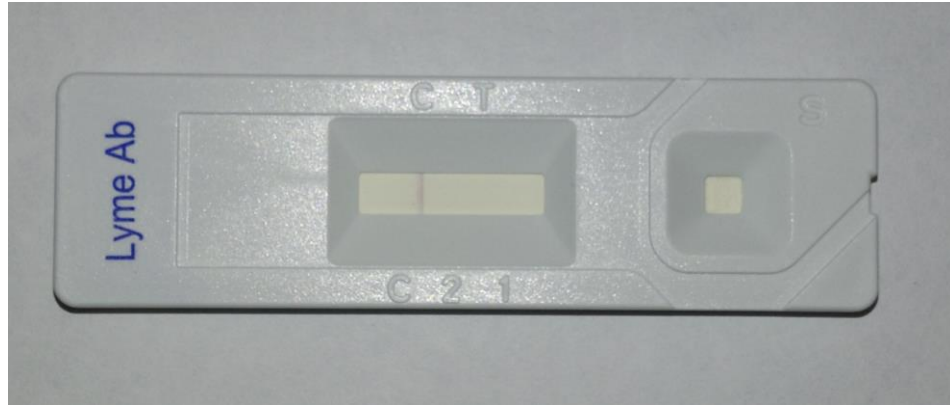


Рисунок 9 – Иммунохроматографическая тест-полоска фирмы VetExpert для диагностики болезни Лаймы.

2.2.9. Статистический

Все полученные результаты исследований были обработаны с помощью программы Statistica 6 на базе компьютера Intel Core 3. Статистическая обработка проводилась с вычислением среднего арифметического показателя (M), ошибки средней арифметической (m) и коэффициента достоверности показателей (p).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Методика получения плазмы, обогащенной тромбоцитами

На сегодняшний день все известные и доступные методы получения обогащенной тромбоцитами аутоплазмы адаптированы для человека. У данных методик имеются существенные минусы, такие как большой объем отбираемой крови, необходимость специального оборудования и реактивов, что делает их применение проблематичным для ветеринарии. После изучения достаточного количества литературы, нами был разработана и запатентована собственная методика получения обогащенной тромбоцитами аутоплазмы.

Она заключается в том, что за 15-20 минут до процедуры у животного выполняют аспирацию периферической крови из вены в количестве 10-15 мл в пробирку с цитратом натрия. Пробирку центрифугируют на центрифуге при скорости 1000 об/мин в течение 10 минут. После центрифугирования из пробирки отбирают нижний слой плазмы, обогащенной тромбоцитами, с концентрацией клеток 1000-1200 тыс/мкл. Полученную аутоплазму активируют путем смешивания с 10% раствором CaCl_2 в соотношении 1:10. Таким образом, данная методика отмечается простотой и доступностью.

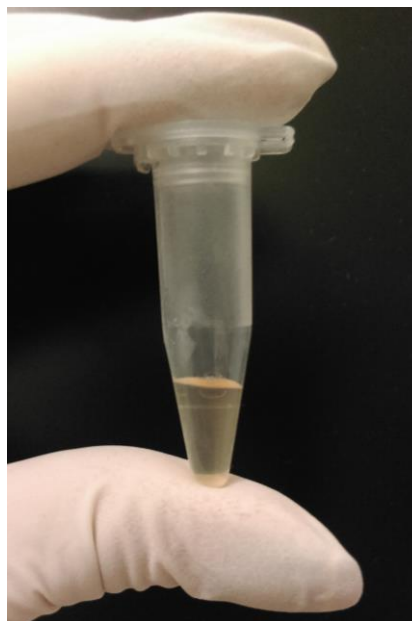


Рисунок 10 – Обогащенная тромбоцитами аутоплазма.

3.2. Причины, манифестация и породная предрасположенность к остеоартрозам у собак в г. Саратове

В период проведения научно-исследовательской работы с 2013 по 2015 год на первичный прием в ветеринарную клинику доставлено 5320 животных. При этом с суставной патологией оказалось 294 животных, из которых 210 – с остеоартрозом различных суставов, что составляло 3,94 % от общего числа поступивших на прием животных и 71,42 % - от числа животных с суставной патологией.

Нами установлено, что чаще всего поражен коленный сустав – 57 % от общего числа животных с остеоартрозом (диагр. 1.). Поражение локтевого сустава отмечено у 18 % животных, плечевого – у 10,5 % животных. Реже регистрировали остеоартроз тазобедренного и лучезапястного сустава (6 % и 8,5 % соответственно).

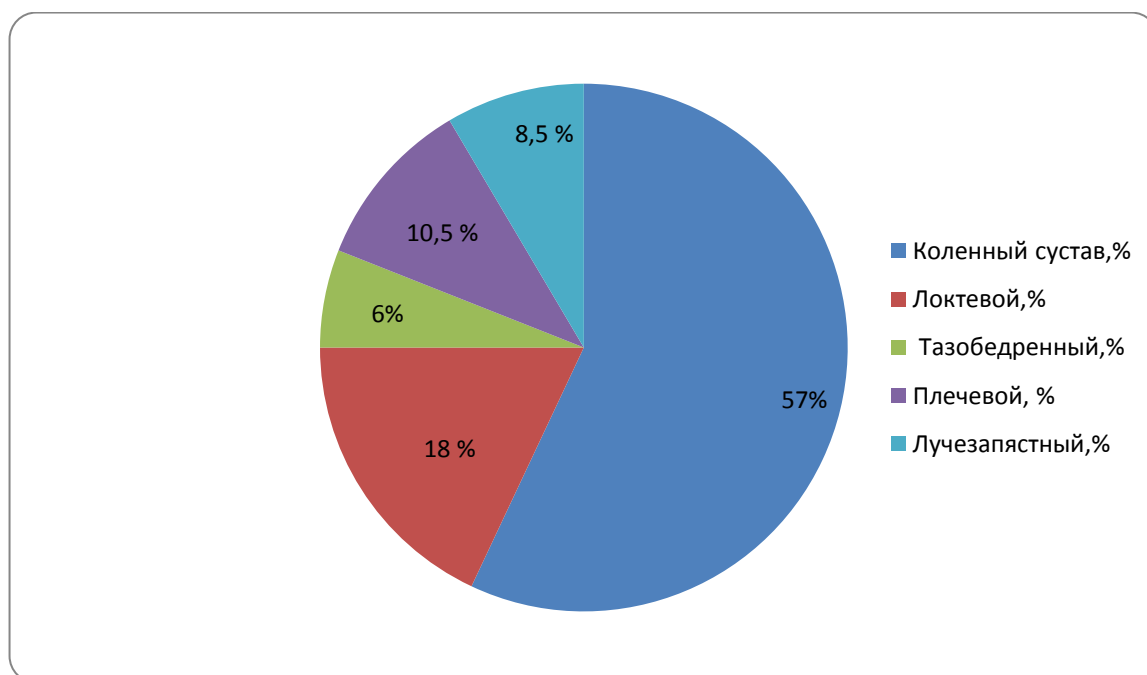


Диаграмма 1 - Манифестация остеоартрозов у собак

В ходе анализа первичной документации (журнал первичного приема и собственных исследований) установлена определенная породная предрасположенность (диагр.2): лабрадор (20%), беспородные собаки (16%), чау-чау (8%), йоркширские терьеры (8%), шар-пей (4%), аляскинский маламут (4%),

питбуль-терьер (4%), джек-рассел терьер (4%), померанский и немецкий шпиц (4%), такса (4%), мопс (4%), американский стаффордширский терьер (2%), кавказская овчарка (2%), ирландский сеттер (2%), бордосский дог (2%), английский бульдог (2%), английский кокер-спаниель (2%), немецкая овчарка (2%), акита-ину (2%), далматин (2%), китайская хохлатая собака (2%).

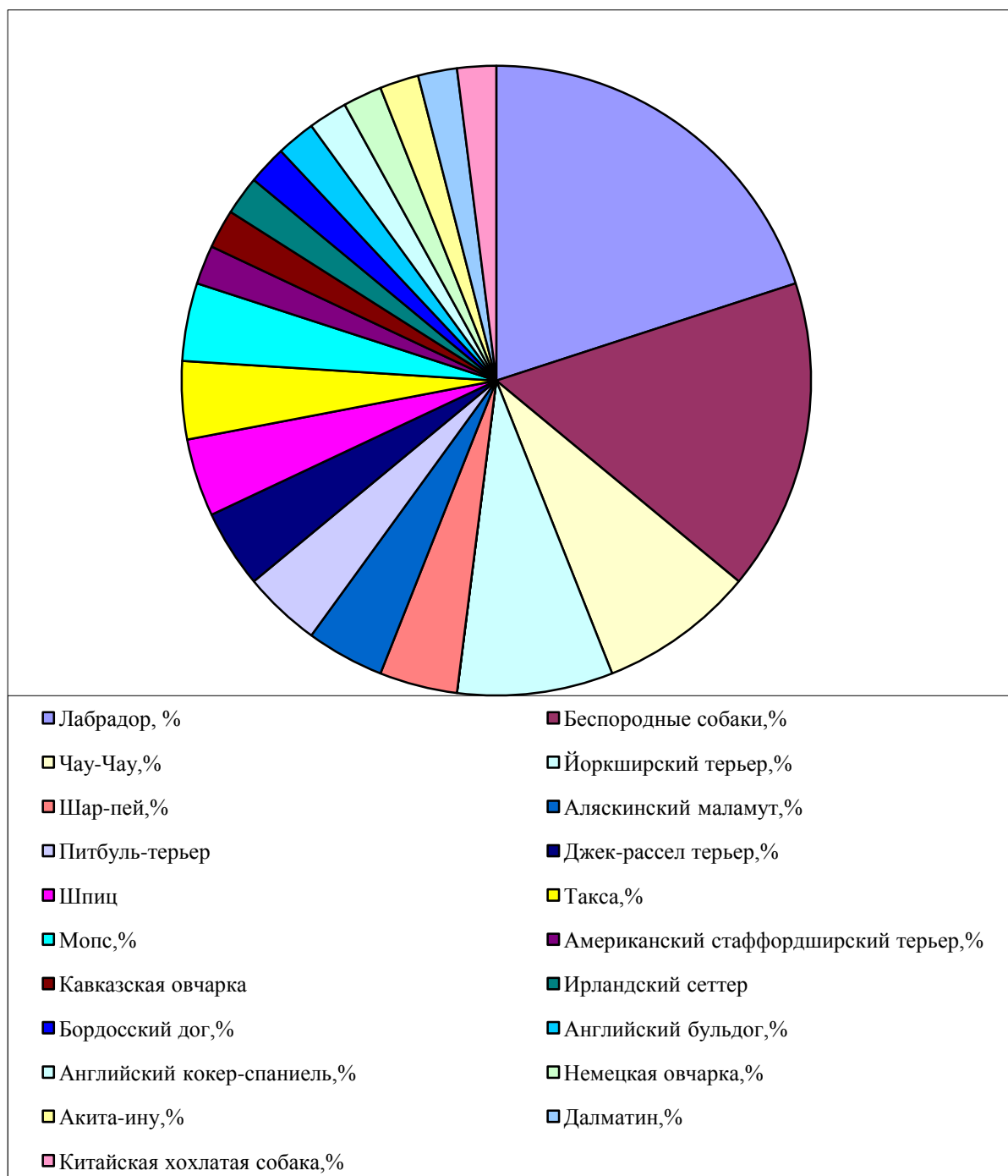


Диаграмма 2 – Породная предрасположенность к остеоартрозам у собак.

Половой предрасположенности нами не выявлено, так как кобели составили 51% , суки - 49% от общего числа животных с остеоартрозом.

Этиологическими признаками гонартроза в нашем исследовании явились: травматизация сустава, а также надрывы передней и задней крестовидных связок; нарушение норм кормления у щенков в период роста, что привело к вальгусным и варусным деформациям бедренных костей и костей голени; избыточный вес животных. Остеоартроз локтевого сустава чаще всего был вызван дисплазией, фрагментацией венечного и крючковидного отростков, а также закрытыми травмами сустава. Поражение тазобедренного сустава чаще провоцировалось дисплазией или болезнью Легга-Кальве-Пертеса, или же было отдаленным последствием переломов костей таза (в частности, вертлужной впадины). Лучезапястный сустав поражался чаще вследствие травм и деформаций костей предплечья (вальгусных и варусных). Этиология остеоартроза плечевого сустава, к сожалению, осталась нами не выясненной и он был классифицирован нами как идиопатический.

Таким образом, стоит отметить, что на долю остеоартроза приходится большой процент от всех суставных патологий. Заболевание весьма полиэтиологичное, встречается как крупных (лабрадор, немецкая овчарка, кавказская овчарка и т.д.), так и мелких пород собак (шпиц, китайская хохлатая собака, йоркширский терьер).

3.3.1. Динамика клинико-гематологических изменений

Хромота является основным клиническим признаком остеоартроза и чаще всего служит причиной обращения владельцев животного в ветеринарную клинику [26,49,58,78,95]. При первичном осмотре клинически больных животных с остеоартрозом регистрировали нарушение стато-локомоторного акта. Отмечалась хромота висячего или опирающего типа разной степени выраженности (Рисунок 11 А,Б). При этом у отдельных животных наблюдалась «стартовая» хромота, т.е. животные в течение некоторого времени после продолжительного отдыха не опирались на пораженную конечность, подвижность возобновлялась позже, хромота приобретала опирающий тип. У других животных, наоборот, отмечали сильную хромоту опирающего типа после нагрузок и тренинга. В спокойном состоянии хромота становилась менее выраженной, но не исчезала полностью.

У животных с остеоартрозом коленного сустава часто наблюдали гипотрофию бедренной группы мышц (Рисунок 11 А,Б).



Рисунок 11 А– Хромота висячего типа Б - хромота опирающего типа и гипотрофия скелетной мускулатуры у собак с остеоартрозом коленного сустава.

При пальпации суставов отмечали крепитацию, тугоподвижность, болезненность. Пораженные суставы не увеличены в размерах, местная температура не повышена.

Так как в нашем исследовании участвовали животные с 1 - 4 стадиями остеоартроза, перечисленные выше клинические признаки не всегда присутствовали одновременно. Остеоартроз первой стадии у животных чаще всего сопровождала хромота опирающего типа после нагрузок, редко - в спокойном состоянии. На данном этапе отсутствовала крепитация, болезненность не была выражена. Гипотрофия мускулатуры отсутствовала.

При остеоартрозе второй стадии, когда появляются морфологические изменения в хряще и субхондральной кости, к клинической картине добавлялся болевой синдром, развивалась тугоподвижность, присутствовала крепитация. Ввиду того, что животное, испытывающее боль, начинает оберегать конечность, развивалась гипотрофия мускулатуры.

При переходе остеоартроза в третью и четвертую стадии клинические признаки усугублялись: прогрессировала хромота, гипотрофия скелетной мускулатуры. Появившиеся в суставе остеофиты и хондромные тела обуславливали сильную болезненность и крепитацию, отмечалась тенденция к формированию контрактуры сустава.

На следующий день после первой процедуры интраартикулярного введения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, у всех животных наблюдалось усиление хромоты пораженной конечности, связанное, вероятно, с созданием повышенного давления внутри сустава из-за инъецированной плазмы. Этот побочный эффект был быстропроходящим (в течение суток). Через неделю после первой процедуры у животных с остеоартрозом первой стадии наблюдался ярко выраженный положительный эффект, заключающийся в резком снижении степени хромоты и изменения ее характера. Активность и подвижность животных увеличилась, хромота появлялась лишь после длительных нагрузок. У животных контрольной группы, которым внутривенно вводили «Бонхарен», также уменьшилась хромота, однако эффект был не столь ярко выражен.

У животных опытной группы со второй степенью остеоартроза хромота уменьшилась незначительно, сохранялась болезненность. Аналогичная ситуация была и у животных контрольной группы.

При остеоартрозе третьей и четвертой стадий ввиду сильных деструктивных поражений хряща и субхондральной кости положительного эффекта как у животных опытной, так и у животных контрольной группы после первой инъекции мы не наблюдали.

Спустя 7 дней после первого введения аутоплазмы в сустав процедуру повторили. Через неделю после повторного введения у животных опытной группы наблюдались существенные изменения, хромота пропала полностью, животные стали более активны. У животных контрольной группы хромота все еще сохранялась.

Существенные изменения также произошли у животных опытной группы с остеоартрозом второй стадии. Хромота стала менее выражена, появлялась чаще всего после нагрузок, болезненность сустава пропала, возросла активность животных, они практически перестали оберегать конечность. У животных контрольной группы хромота стала также менее выражена, но при пальпации сохранялась болезненность.

Положительная динамика начала прослеживаться у опытной группы животных с остеоартрозом третьей и четвертой стадий. Незначительно уменьшилась хромота и болезненность, в связи с этим животные стали чуть активнее, стали меньше оберегать конечность, увеличился объем скелетной мускулатуры. В группе контроля сохранялась иная ситуация, хромота стала меньше, но активность животных не увеличилась, что, вероятно связано с существенным болевым синдромом.

Исходя из вышесказанного, мы определили длительность терапии и кратность введения аутоплазмы. У животных с остеоартрозом первой стадии кратность составила 3 процедуры, у животных с остеоартрозом второй стадии – 4, третьей и четвертой стадий – 5 процедур.

К концу терапии у животных опытной группы с остеоартрозом первой и второй стадий исчезла полностью хромота и болезненность, восстановился стато-локомоторный акт.

У животных с остеоартрозом третьей стадии хромота также исчезла. Лишь у отдельных животных она возникала после нагрузок, уменьшилась тугоподвижность сустава, болезненность и крепитация, практически полностью восстановился объем мышц.

Терапия животных с четвертой стадией остеоартроза также показала положительный эффект. У животных исчезла хромота, тугоподвижность, болезненность, восстановился объем мышц, сохранялась лишь незначительная крепитация, связанная с наличием остеофитов и хондромных тел в полости сустава. Животные стали активны и подвижны.

Положительная динамика также присутствовала у животных контрольной группы с первой и второй стадиями остеоартроза. После курса терапии бонхареном клинически у животных регистрировали улучшение статолокомоторного акта, отсутствие хромоты. Применение же бонхарена на третьей и четвертой стадиях остеоартроза не способствовало появлению положительной динамики. Хромота у животных по-прежнему сохранялась и в спокойном состоянии и после нагрузок.

Мониторинг гомеостаза организма в процессе лечения проводили с помощью клинического анализа крови.

Данные Таблицы 1 указывают, что уровень эритроцитов до начала терапии у животных опытной группы с первой стадией остеоартроза составил $6,26 \pm 0,22 \times 10^{12}$, со второй стадией - $6,35 \pm 0,23$, с третьей - $6,83 \pm 0,17$, с четвертой - $6,64 \pm 0,35 \times 10^{12}$. Данные показатели находились в пределах референсных величин. После проведенной терапии концентрация эритроцитов у животных опытной группы с первой, второй и четвертой стадиями остеоартроза незначительно возросла до $6,41 \pm 0,31 \times 10^{12}$, $6,38 \pm 0,14 \times 10^{12}$ и $6,71 \pm 0,34 \times 10^{12}$ соответственно. У животных с третьей стадией остеоартроза уровень эритроцитов после проведенного лечения незначительно снизился и составил $6,72 \pm 0,21 \times 10^{12}$. Все изменения по-прежнему оставались в рамках референсных величин. Указанные изменения характеризуют отсутствие негативного воздействия терапии обогащенной тромбоцитами плазмой на эритропоэз.

У контрольной группы животных, которым вводили препарат «Бонхарен», динамика концентрации эритроцитов была практически аналогичной (Таблица 2). После проведенного лечения отмечено незначительное увеличение содержания эритроцитов у животных с первой, второй и четвертой стадиями остеоартроза, а у животных с третьей стадией отмечено снижение уровня эритроцитов. Изменения концентрации эритроцитов у контрольной группы животных не выходили за рамки референсных величин.

Таблица 1. Динамика гематологических показателей при терапии животных опытных групп с остеоартрозами обогащенной тромбоцитами аутоплазмой (n=60, * p≤0,05, ** p≤0,01, * p≤0,001)**

Показатель	Референсные интервалы	ОА 1 стадии		ОА 2 стадии		ОА 3 стадии		ОА 4 стадии	
		До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
Гемоглобин, г/л	115-180	136,50±8,76	141,5±2,5	129,3±5,21	133,3±5,43	135,10±5,87	137,4±5,1	143,90±4,23	145,8±4,4
Гематокрит, %	37-54	42,60±1,17	41,5±2,1	44,30±2,31	45,2±1,5	42,70±2,40	43,8±2,1	43,16±1,34	44,3±2,1
Эритроциты, ×10 ¹²	5,5-8,5	6,26±0,22	6,41±0,31	6,35±0,23	6,38±0,14	6,83±0,17	6,72±0,2	6,64±0,35	6,71±0,34
СОЭ, мм/ч	0-22	7,7±1,28	5,4±2,1	6,9±1,21	6,4±1,2	8,0±1,15	8,9±0,6	8,5±0,91	6,7±0,8**
Тромбоциты, ×10 ⁹	160-430	360±19,3	363±9,1	366,1±13,8	372±10,5	272,918,7	321±11,6***	375±12,3	368±7,9
Лейкоциты, ×10 ⁹	6,0-17,0	11,29±0,83	8,9±1,2*	11,13±1,26	10,5±1,8	7,59±0,43	6,8±0,9	9,71±0,51	8,4±1,3*
Эозинофилы, %	2-10	2,6±0,5	2,3±0,4	2,4±0,6	2,5±0,5	2,5±0,6	2,9±0,4	2,9±0,6	2,1±0,3*
Базофилы, %	0-1	0,6±0,2	0,5±0,1	0,7±0,1	0,8±0,3	0,9±0,1	0,5±0,2	0,7±0,2	0,4±0,1
Палочкоядерные нейтрофилы, %	0-3	1,3±0,4	1,5±0,3	1,1±0,2	0,8±0,3	1,0±0,3	0,9±0,1	1,3±0,4	1,2±0,4
Сегментоядерные нейтрофилы, %	60-70	62,7±0,9	61,9±11	67,1±2,8	65,5±1,3	67,0±1,8	69,4±0,5	66,3±1,5	63,7±1,6
Моноциты, %	3-10	4,2±0,8	3,1±1,1*	3,6±0,9	3,9±0,8	3,7±0,7	3,9±1,1	4,1±0,3	3,9±0,2
Лимфоциты, %	12-30	29,7±1,2	25,3±1,1	24,6±1,3	20,3±1,5	25,3±1,5	25,9±1,2	24,3±1,3	22,1±0,9

Скорость оседания эритроцитов (СОЭ) до начала лечения у животных всех

опытных групп колебалась от $6,9 \pm 1,2$ мм/ч до $8,5 \pm 0,9$ мм/ч (Таблица 1), у животных контрольных групп – от $7,1 \pm 1,03$ мм/ч до $8,9 \pm 1,2$ мм/ч (Таблица 2). На момент окончания терапии уровень СОЭ у животных опытных групп составлял от $5,4 \pm 2,1$ мм/ч до $8,9 \pm 0,6$ мм/ч, у животных контрольных групп от $5,6 \pm 1,5$ мм/ч до $8,2 \pm 1,2$ мм/ч.

Таблица 2. Динамика гематологических показателей при терапии животных контрольных групп с остеоартрозами обогащенной тромбоцитами аутоплазмой (n=60,* p≤0,05, ** p≤0,01, * p≤0,001)**

Показатель	Референсные интервалы	ОА 1 стадии		ОА 2 стадии		ОА 3 стадии		ОА 4 стадии	
		До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
Гемоглобин, г/л	115-180	139,1±6,87	140,3±4,7	130,4±5,60	132,4±3,4	137,8±4,44	139,7±5,1	148,25±5,48	146,3±3,1
Гематокрит, %	37-54	43,90±1,41	43,1±1,9	41,30±1,55	42,7±1,8	39,80±4,71	41,5±1,9	42,72±1,08	43,8±1,7
Эритроциты, $\times 10^{12}$	5,5-8,5	6,36±0,46	6,39±0,45	6,99±0,78	6,78±0,81	6,57±0,17	6,64±0,19	6,57±0,12	6,68±0,15
СОЭ, мм/ч	0-22	8,6±0,73	6,9±1,3*	7,1±1,03	6,9±0,5	7,8±0,9	8,2±1,2	8,9±1,2	5,6±1,5***
Тромбоциты, $\times 10^9$	160-430	340±16,4	361±12,3	358,60±11,3	369±7,8	323,8±14,8	320±9,5	369±14,2	353±12,3
Лейкоциты, $\times 10^9$	6,0-17,0	10,15±0,57	9,5±0,9	10,13±0,88	12,4±0,2*	8,60±0,31	7,2±0,4*	8,95±1,02	9,7±0,9
Эозинофилы, %	2-10	2,1±0,6	3,1±0,8	3,1±0,5	3,6±0,1	3,2±0,5	2,2±0,9	3,1±0,2	3,7±0,5
Базофилы, %	0-1	0,4±0,2	0,6±0,2	0,8±0,1	0,6±0,4	0,8±0,1	0,7±0,3	0,8±0,1	0,6±0,2
Палочкоядерные нейтрофилы, %	0-3	0,7±0,2	0,9±0,2	1,0±0,2	1,2±0,2	1,2±0,3	1,1±0,2	1,0±0,3	0,9±0,4
Сегментоядерные нейтрофилы, %	60-70	68,7±0,6	65,3±0,6	67,7±1,1	63,7±0,9	65,6±1,4	67,3±1,2	64,5±2,1	62,5±2,2
Моноциты, %	3-10	3,7±0,9	4,2±0,5	2,7±0,5	3,1±0,9	3,7±0,7	3,2±1,6	3,9±0,1	3,5±0,2
Лимфоциты, %	12-30	25,6±1,3	27,4±3,2	28,6±0,9	28,9±1,3	25,5±0,8	24,9±2,3	26,4±1,2	28,6±2,1

Указанные данные находились в рамках референсных величин, что свидетельствует во-первых, о том, что остеоартроз не оказывает системной

воспалительной реакции на организм, а во-вторых, терапия аутоплазмой, обогащенной тромбоцитами, также не оказывает указанного побочного эффекта.

Уровень лейкоцитов до начала терапии у всех животных находился в пределах референсных величин. К примеру, у животных опытной группы с первой стадией остеоартроза их уровень составил $11,29 \pm 0,83 \times 10^9$, у контрольной - $10,15 \pm 0,57 \times 10^9$. Вторая стадия остеоартроза у животных опытной группы до начала терапии характеризовалась концентрацией лейкоцитов на уровне $11,13 \pm 1,26 \times 10^9$, третья и четвертая $7,59 \pm 0,43 \times 10^9$ и $9,71 \pm 0,51 \times 10^9$ соответственно. На момент окончания терапии уровень лейкоцитов у опытной группы животных с первой стадией остеоартроза снизился значительно (до $8,9 \pm 1,2 \times 10^9$). У остальных животных опытных групп также отметилась тенденция к снижению общего количества лейкоцитов (Таблица 1). У контрольных групп животных динамика была несколько иной. Уровень лейкоцитов немного снизился после проведенной терапии у животных с первой и третьей стадиями остеоартроза ($9,5 \pm 0,9 \times 10^9$ и $7,2 \pm 0,4 \times 10^9$ соответственно), а у животных со второй и четвертой стадиями поражения суставов незначительно повысился до $12,4 \pm 0,2 \times 10^9$ и $9,7 \pm 0,9 \times 10^9$ соответственно (Таблица 2). Тем не менее, указанные изменения не выходили за рамки референсных интервалов, что свидетельствует, во-первых, о невоспалительном характере обсуждаемой патологии, во-вторых, об отсутствии воспалительных явлений в суставе на фоне терапии аутоплазмой, обогащенной тромбоцитами.

Уровень эозинофилов у животных опытных групп до начала терапии составил от $2,4 \pm 0,6\%$ до $2,9 \pm 0,6\%$ и на всем протяжении исследования значительно не менялся (Таблица 1). У животных контрольных групп уровень эозинофилов до начала терапии колебался от $2,1 \pm 0,6\%$ до $3,2 \pm 0,5\%$ (Таблица 2), а на момент окончания терапии от $2,2 \pm 0,9\%$ до $3,7 \pm 0,5\%$. Все изменения проходили в рамках референсных величин, тенденции к формированию эозинофилии или эозинопении отмечено не было.

В отношении базофилов в лейкограмме исследуемых животных значимых сдвигов отмечено не было, все показатели находились в пределах референсных

интервалов. Принимая во внимание отсутствие эозино- и базофилии у животных обеих групп, можно сделать вывод, что проводимая терапия не оказывает сенсibiliзирующего действия на организм и не провоцирует аллергические реакции.

Количество сегментоядерных нейтрофилов, как известно, увеличивается при септических процессах в организме. На момент начала терапии у животных опытных групп их уровень колебался от $62,7 \pm 0,9$ % до $67,1 \pm 2,8$ %, что находится в рамках референсных величин (Таблица 1). Чуть более высоким был изначальный уровень сегментоядерных нейтрофилов у животных контрольных групп, колебаясь в пределах от $64,5 \pm 2,1$ % до $68,7 \pm 0,6$ % (Таблица 2). После проведенной терапии у животных опытных групп нейтрофилии отмечено не было, напротив, уровень сегментоядерных нейтрофилов несколько снизился относительно стартовых значений. При этом их уровень составлял от $61,9 \pm 1,1$ % до $65,5 \pm 1,3$ % (Таблица 1). У животных контрольных групп с первой, второй и четвертой стадиями остеоартроза также было отмечено снижение концентрации сегментоядерных нейтрофилов, уровень которых составил $65,3 \pm 0,6$ %, $63,7 \pm 0,9$ % и $62,5 \pm 2,2$ % соответственно (Таблица 2). В контрольной группе животных с остеоартрозом третьей стадии отмечено незначительно повышение уровня сегментоядерных нейтрофилов до $67,3 \pm 1,2$ % (Таблица 2). Все указанные выше изменения проходили в пределах референсных интервалов. Нейтрофильного сдвига в лейкограмме опытных животных после лечения мы не наблюдали, что характеризует отсутствие септических осложнений при терапии аутоплазмой, обогащенной тромбоцитами.

Согласно данным таблицы 1 и 2, моноциты в лейкоцитарной формуле у животных как опытных так и контрольных групп до начала лечения находились в рамках референсных величин. На всем протяжении лечения ни у одной из групп животных не было отмечено существенных сдвигов концентрации моноцитов. Колебания были незначительными и проходили в пределах референсных интервалов (Таблица 1, Таблица 2). Отсутствие моноцитоза у животных опытных и контрольных групп в процессе терапии указывает на нормальную функцию

красного костного мозга при остеоартрозе.

Ввиду постоянного отбора крови для приготовления аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами у животных опытной группы необходимо отслеживать общее количество тромбоцитов в крови. До начала терапии у животных с остеоартрозом первой стадии их уровень составлял $360 \pm 19,3 \times 10^9$, второй- $366,1 \pm 13,8 \times 10^9$, третьей - $272,9 \pm 18,7 \times 10^9$, четвертой $375 \pm 12,3 \times 10^9$. На момент окончания у животных с первой и второй стадиями остеоартроза регистрировали небольшое увеличение концентрации тромбоцитов в крови, которая составила $363 \pm 9,1 \times 10^9$ и $372 \pm 10,5 \times 10^9$ соответственно. У животных с третьей стадией отмечено значительное увеличение уровня тромбоцитов до $321 \pm 11,6 \times 10^9$, а у животных с четвертой стадией, напротив, регистрировали незначительное уменьшение содержания тромбоцитов до $368 \pm 7,9 \times 10^9$. Все указанные изменения происходили в рамках референсных величин, что свидетельствует об отсутствии тромбоцитопении, которая может являться относительным противопоказанием к процедуре отбора крови для приготовления обогащенной тромбоцитами плазмы.

Стабильные гематологические показатели исследуемых нами животные еще раз подтверждают тот факт, что остеоартроз не является системным заболеванием. Отсутствие значимых сдвигов в концентрациях эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов свидетельствует о том, что терапия животных с остеоартрозами обогащенной тромбоцитами аутоплазмой не оказывает угнетающего воздействия на эритро-, лейко- и тромбопоз.

3.3.2. Динамический рентгеномониторинг терапии

Рентгенография является общедоступным и высокоинформативным методом исследования костей и суставов, что позволяет проводить оценку характерных изменений при остеоартрозе, а также мониторинг терапии [75,86,101]. В нашей работе рентгенография суставов выполнялась всем животным дважды - до начала терапии и после ее окончания.



А)



Б)

Рисунок 12 А - Остеоартроз коленного сустава 2 стадии, рентгенограмма до начала терапии, боковая проекция. Животное опытной группы. Очаги склерозирования субхондральной кости, единичные остеофиты. Б) - После окончания курса терапии - выравнивание суставной поверхности. Уменьшение степени склерозирования субхондральной кости. Уменьшение размеров остеофитов.

Первая стадия остеоартроза у собак характеризовалась незначительными структурными изменениями в виде сужения суставной щели. Для второй стадии были характерны более глубокие изменения в виде субхондрального склероза и единичного остеофитоза (Рисунок 12 А). У животных с третьей стадией остеоартроза коленного сустава регистрировались значительные остеофиты, деформации суставных поверхностей (Рисунок 13 А). При четвертой степени остеоартроза изменения более выражены, отмечали крупные остеофиты, сильные субхондральный остеосклероз и деформации эпифизов костей.



Рисунок 13 А - Остеоартроз коленного сустава 3 стадии, рентгенограмма до начала терапии, прямая проекция. Животное контрольной группы. Множественные остеофиты. Неравномерное сужение суставной щели. Б - рентгенограмма после окончания курса терапии. Множественные остеофиты, усиление субхондрального склероза. Неравномерное сужение суставной щели

Интраартикулярные инъекции обогащенной тромбоцитами аутоплазмы опытным группам животных способствовали появлению положительной динамики при всех стадиях поражения сустава.

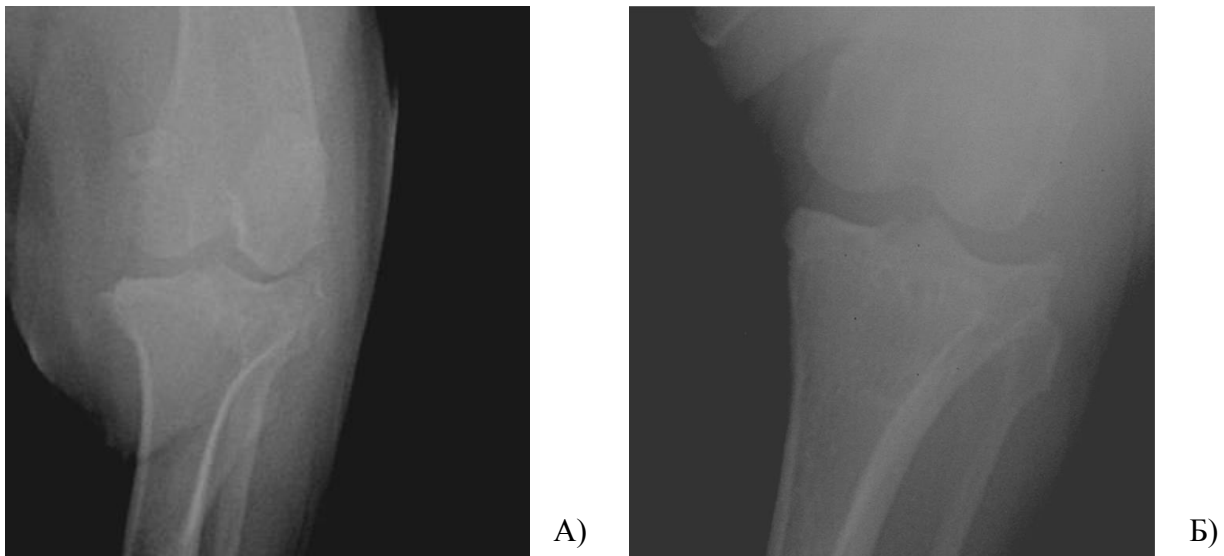


Рисунок 14 А - Остеоартроз коленного сустава 3 стадии, рентгенограмма до начала терапии, прямая проекция. Животное опытной группы. Неравномерное сужение суставной щели, субхондральный склероз, остеофитоз. Деформация медиального мыщелка большеберцовой кости. Б- рентгенограмма после курса интраартикулярных инъекций обогащенной тромбоцитами аутоплазмы. Выравнивание суставной щели, появление четкости

контуров хряща. Исчезновение остеофитоза и деформации медиального мыщелка большеберцовой кости.

После проведенного лечения у животных опытной группы с первой стадией гонартроза рентгенографических изменений выявлено не было, что характеризуется как нулевая стадия, то есть поражение сустава отсутствует. У опытной группы животных со второй стадией остеоартроза курс терапии способствовал уменьшению остеосклероза субхондральной кости и лизису остеофитов. Рентгенографические изменения у собак с третьей и четвертой стадиями остеоартроза также были положительными. На рентгенограммах регистрировалось снижение степени субхондрального склероза, уменьшение количества остеофитов.

Напротив, у всех животных контрольных групп, которым вводили препарат «Бонхарен», рентгенографическая динамика была незначительной. У животных с первой стадией остеоартроза отмечено выравнивание толщины суставной щели. Рентгенограммы суставов у животных со второй, третьей и четвертой стадиями остеоартроза оставались без изменений. Проведенная терапия не способствовала ни лизису остеофитов, ни уменьшению субхондрального склероза.

3.3.3. Динамика биохимических показателей сыворотки крови при лечении больных асептическими остеоартрозами животных

Как известно, остеоартроз не является системным заболеванием. До начала лечения, а также для контроля возможных побочных эффектов (гепато- и нефротоксичности) в процессе терапии, мы проводили биохимический скрининг, определяя в сыворотке крови уровень пигментов (билирубин), печеночных ферментов (аланинаминотрансфераза, аспартатаминотрансфераза, щелочная фосфатаза), холестерина, общего белка и его фракций (альбумин, С-реактивный белок), глюкозы, показатели работы почек (креатинин, мочевины), мочевую кислоту и ревматоидный фактор (Таблица 3, Таблица 4).

Аланинаминотрансфераза (АЛТ) и аспартатаминотрансфераза (АСТ) – это ферменты, преимущественно находящиеся в мышечной ткани сердца, скелетной мускулатуре и печени. Активность АЛТ возрастает при поражениях печени, а АСТ – при поражении сердца или мускулатуры. Согласно приведенным данным (Таблица 3) уровень АЛТ и АСТ у животных опытных групп до начала терапии оставался в рамках референсных величин. У контрольных групп животных концентрация данных ферментов также не превышала референсных значений (Таблица 4). Незначительная динамика ферментативной активности прослеживалась у всех исследуемых животных. Так, на момент окончания терапии у животных опытной группы с первой стадией остеоартроза концентрация АЛТ снизилась с $43,7 \pm 6,03$ у/л до $42,8 \pm 5,1$ у/л, со второй стадией с $51,1 \pm 6,23$ у/л до $49,6 \pm 7,3$ у/л. У опытных животных с третьей и четвертой стадиями остеоартроза уровень АЛТ незначительно повысился (от $47,5 \pm 6,33$ у/л до $50,5 \pm 3,9$ у/л и от $48,4 \pm 5,62$ у/л до $53,1 \pm 4,8$ у/л соответственно). К концу курса терапии уровень АЛТ у животных контрольных групп с первой, второй и четвертой стадиями немного увеличился (Таблица 4), а у животных с третьей стадией – понизился. Данные изменения происходили в рамках референсных величин. Аналогичная динамика прослеживалась во всем группах относительно ферментативной активности АСТ. Уровень фермента в сыворотке крови у

Таблица 4. Динамика биохимических показателей сыворотки крови при терапии животных контрольных групп с остеоартрозами обогащенной тромбоцитами аутоплазмой (n=60, * p≤0,05, ** p ≤ 0,01, * p ≤0,001)**

Показатель	Референсные интервалы	ОА 1 стадии		ОА 2 стадии		ОА 3 стадии		ОА 4 стадии	
		До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
АЛТ, у/л	8,0-57,0	45,1±3,67	46,7±2,9	50,1±5,60	53,8±2,5	52,4±4,34	50,5±3,9	42,5±6,12	43,6±5,1
АСТ, у/л	9,0-48,5	28,0±5,02	30,1±4,7	36,2±3,90	38,7±4,3	34,6±3,71	39,2±4,8	39,7±3,51	41,5±4,6
Билирубин, мкмоль/л	0,1-10,3	4,65±0,88	4,98±1,30	4,78±0,91	3,02±1,14**	6,26±1,12	4,06±1,77***	6,01±2,36	5,09±2,37*
Общий белок, г/л	50,8-77,2	44,4±8,04	65,5±3,84***	55,3±5,91	71,2±4,70**	50,3±8,04	58,9±4,43	49,4±7,31	59,8±3,65*
Альбумин, г/л	25,0-39,7	24,7±3,53	31,8±2,61*	27,7±3,58	36,5±2,34*	33,8±1,18	30,6±1,33	30,9±1,4	35,8±1,97
Щелочная фосфатаза, у/л	10,0-90,0	57,9±7,35	49,1±3,51	63,6±4,35	69,3±4,85	47,2±6,29	59,6±3,14*	68,8±5,13	78,6±4,71**
Холестерин, ммоль/л	2,0-6,9	4,89±0,64	4,6±0,28	5,37±0,60	4,3±0,58*	5,92±0,62	4,2±0,38**	5,35±0,52	4,1±0,29*
Креатинин, мкмоль/л	44,3-138,4	104,0±10,47	98,3±8,6	103,4±12,1	83,6±7,38***	105,2±8,27	98,8±8,95	99,3±7,7	125,8±8,82**
Мочевина, ммоль/л	2,5-8,6	4,41±0,75	7,16±0,55*	4,26±0,62	4,98±0,62	5,32±0,56	6,31±0,59	5,67±0,44	5,26±0,51
Мочевая кислота, мкмоль/л	29,6-83,0	59,77±6,58	62,35±5,78	70,23±4,02	63,35±4,89*	62,41±4,56	59,34±6,90	58,63±6,63	67,09±4,96*
Глюкоза, ммоль/л	3,4-6,5	4,89±0,27	5,13±0,26	5,45±0,31	4,79±0,35	4,90±0,37	4,76±0,41	4,5±0,6	4,85±0,91
С-реактивный белок, мг/л	До 0,5	-	-	-	-	-	+	+	+
Ревматоидный фактор	До 10	-	-	-	-	-	-	-	-

Холестерин по своей структуре представляет собой одноатомный циклический спирт, в организм поступает в основном с пищей, но часть его образуется эндогенно. Холестерин является предшественником стероидных гормонов и желчных кислот. Концентрация холестерина в сыворотке крови

является одним из маркеров липидного обмена.

Повышение данного показателя в сыворотке крови наблюдают при заболеваниях печени, холестазах и др. Снижение же уровня холестерина в сыворотке крови иногда отмечают при ревматоидном артрите. У животных опытных групп до начала терапии уровень холестерина колебался от $4,75 \pm 0,91$ ммоль/л до $6,57 \pm 0,48$ ммоль/л (Таблица 3). У животных контрольных групп содержание холестерина в сыворотке крови составляло от $4,89 \pm 0,64$ ммоль/л до $5,92 \pm 0,62$ ммоль/л (Таблица 4). Данные показатели находились в пределах референсных интервалов. После курса проведенной терапии у животных опытных и контрольных групп отмечено снижение уровня холестерина в рамках референсных величин (Таблица 3).

Фермент щелочная фосфатаза присутствует практически во всех органах и тканях, но наибольшая активность его отмечена в гепатоцитах и остеобластах. Повышение уровня щелочной фосфатазы происходит как в условиях активного роста костной ткани, так и при ее разрушении. Известно также, что щелочная фосфатаза является маркером остеобластов. В начале курса лечения ее уровень у животных опытной группы с первой стадией остеоартроза составил $49,9 \pm 8,27$ у/л, со второй - $67,0 \pm 4,90$ у/л, с третьей - $69,6 \pm 5,34$ у/л, с четвертой - $70,7 \pm 5,12$ у/л. Показатели контрольных групп животных до начала терапии составили $57,9 \pm 7,35$ у/л, $63,6 \pm 4,35$ у/л, $47,2 \pm 6,29$ у/л и $68,8 \pm 5,13$ у/л соответственно. Исследуемый показатель находился в рамках референсных интервалов, что говорит об отсутствии глубоких деструктивных изменений в субхондральной кости пораженного сустава. У животных опытных групп после курса интраартикулярных инъекций обогащенной тромбоцитами аутоплазмой отмечено снижение концентрации щелочной фосфатазы в сыворотке крови. Таким образом, уровень фермента у животных с первой стадией остеоартроза составил $44,8 \pm 2,16$ у/л, со второй - $58,6 \pm 2,94$ у/л, с третьей - $59,6 \pm 3,14$ у/л, с четвертой - $55,4 \pm 6,34$ у/л. На момент окончания курса лечения уровень щелочной фосфатазы у животных контрольной группы с первой стадией остеоартроза незначительно снизился до $49,1 \pm 3,51$ у/л. У животных с остальными стадиями концентрация фермента

несколько повысилась, относительно базового уровня (Таблица 4). Несмотря на различные динамические изменения у опытных и контрольных групп животных, концентрация уровня щелочной фосфатазы не выходила за рамки референсных величин. Это говорит об отсутствии прогрессивного остеосклероза субхондральной кости в процессе терапии обогащенной тромбоцитами аутоплазмой. Данные о снижении уровня обсуждаемого фермента у опытных групп животных после проведенной терапии позволяют нам косвенно предполагать наличие у обогащенной тромбоцитами аутоплазмы остеорепаративных свойств.

Билирубин - основной пигмент, образующийся в селезенке и клетках ретикулоэндотелиальной системы при катаболизме гемсодержащих белков (гемоглобин, миоглобин и т.д.). Из клеток ретикулоэндотелиальной системы билирубин попадает в сыворотку крови и транспортируется в печень, где конъюгируется до нетоксичных соединений и экскретируется. Гипербилирубинемия возможна при гемолитической анемии, гепатитах, холестатических процессах. На протяжении исследования уровень билирубина у животных опытных групп находился в референсных интервалах, что свидетельствует о нормальной дезинтоксикационной функции печени в процессе терапии обогащенной тромбоцитами аутоплазмой.

Креатинин – конечный продукт распада креатина, играющий важнейшую роль в энергетическом обмене мышечной ткани. Синтезируется в основном в печени, экскретируется почками, фильтруясь через базальную мембрану гломерул. В норме образование креатинина и его элиминация из организма находятся в равновесии.

Мочевина является доминирующим продуктом азотистого обмена, синтезируясь в печени. Выводится из организма преимущественно путем почечной фильтрации. Повышение уровня креатинина и мочевины в крови является признаком почечной недостаточности. В нашем исследовании уровень креатинина у животных опытных групп до начала терапии находился в пределах референсных величин и колебался от $96,7 \pm 6,83$ мкмоль/л до $125,2 \pm 6,21$ мкмоль/л,

уровень мочевины – от $4,21 \pm 0,96$ ммоль/л до $5,57 \pm 0,68$ ммоль/л. У животных контрольных групп исследуемые показатели также находились в референсных интервалах (креатинин – от $99,3 \pm 7,7$ мкмоль/л до $105,2 \pm 8,27$ мкмоль/л, мочевина – от $4,26 \pm 0,62$ ммоль/л до $5,67 \pm 0,44$ ммоль/л). На всем протяжении исследования уровни обсуждаемых показателей претерпевали различные изменения, но не выходили за рамки референсных величин. Отсутствие статистически значимых повышений таких показателей как креатинин и мочевина в сыворотке крови свидетельствует о том, что в процессе терапии у животных не происходит нарушения экскреторной функции почек.

Мочевая кислота – это основной продукт катаболизма пуриновых нуклеозидов, входящих в состав нуклеиновых кислот. Она является конечным продуктом пуринового обмена лишь у человека и высших приматов, в то время как у других млекопитающих мочевая кислота является промежуточным продуктом метаболизма пуринов. Подавляющее количество мочевой кислоты выделяется с мочой. Гиперурикемия способствует появлению подагры, а также развитию подагрического артрита. При проведении комплексной диагностики артропатий определение концентрации мочевой кислоты в крови является актуальным. На момент начала терапии у всех исследуемых животных уровень мочевой кислоты находился в рамках референсных величин (Таблица 3, Таблица 4). У животных опытной группы с первой стадией остеоартроза концентрация мочевой кислоты увеличилась с $52,54 \pm 5,99$ мкмоль/л до $58,52 \pm 4,91$ мкмоль/л, при второй стадии – с $54,25 \pm 6,29$ мкмоль/л до $56,57 \pm 6,28$ мкмоль/л, при четвертой – с $49,78 \pm 4,57$ мкмоль/л до $68,51 \pm 5,06$ мкмоль/л. У животных с третьей стадией остеоартрозного процесса уровень мочевой кислоты незначительно снизился в процессе терапии с $65,25 \pm 3,09$ мкмоль/л до $59,34 \pm 6,90$ мкмоль/л. Указанные изменения не выходили за рамки референсных интервалов. У животных контрольных групп с первой, второй и третьей стадиями остеоартроза также после терапии регистрировали увеличение уровня мочевой кислоты, а у животных с четвертой стадией – снижение (Таблица 4). У контрольных животных все изменения также проходили в пределах референсных интервалов. Отсутствие гипер- и гипоурикемии у

исследуемых животных свидетельствует в первую очередь о неподагрическом характере артропатии, а также позволяет сделать вывод, что терапия обогащенной тромбоцитами плазмой не оказывает отрицательного воздействия на пуриновый обмен у животных.

C-реактивный белок, как известно, является белком острой фазы воспаления. На начальных стадиях процесса у животных опытных и контрольных групп следов C-реактивного белка не отмечено, в то время как на четвертой стадии наблюдается минимальное его присутствие, что свидетельствует о наличии воспалительного процесса в пораженном суставе. При этом у животных опытных групп после курса терапии не отмечено присутствие данного белка в крови, а у животных контрольных групп - незначительное повышение на третьей и четвертой стадиях процесса. Это в частности, характеризует противовоспалительный эффект обогащенной тромбоцитами аутоплазмы. Ревматоидный фактор на всем протяжении исследования у животных обнаружен не был, что свидетельствует о неревматическом характере обсуждаемой артропатии.

Полученные данные в целом доказывают, что остеоартроз не является системным процессом и не сопровождается какими-либо серьезными биохимическими сдвигами. В процессе терапии обогащенной тромбоцитами аутоплазмой биохимический скрининг также не выявил отклонений, что свидетельствует об отсутствии побочных эффектов.

3.3.4. Динамика некоторых биохимических показателей синовиальной жидкости при терапии больных остеоартрозами животных обогащенной тромбоцитами аутоплазмой

Синовиальная жидкость является средой, которая наиболее чутко реагирует на нарушение биохимических процессов в суставе и окружающих тканях. При этом в ней происходит ряд физико-химических изменений, что важно учитывать при дифференциальной диагностике и мониторинге терапии при этой суставной патологии.

Известно, что уроновые кислоты являются структурной единицей макромолекулы гиалуронана - полимерного линейного гликозаминогликана. Гиалуронан синовии играет большую роль в формировании ее вязко-упругих свойств, а также участвует в регуляции трофики суставного хряща. При остеоартрозе наблюдается снижение гиалуронана в синовии, что приводит к нарушению вязкоэластичных свойств синовиальной среды сустава.

До начала терапии у животных всех групп мы отмечали закономерное снижение концентрации уроновых кислот (Таблица 5, Таблица 6), что является характерной чертой остеоартрозного процесса [55,56]. Наиболее сильные отклонения от референсных величин наблюдаются у животных с третьей и четвертой стадиями остеоартроза, где концентрация уроновых кислот в опытных группах до лечения составила $10,91 \pm 1,09$ ммоль/л и $7,5 \pm 3,9$ ммоль/л, а в контрольных - $10,53 \pm 1,9$ ммоль/л и $8,2 \pm 2,5$ ммоль/л соответственно. В процессе терапии исследуемых животных мы наблюдали как положительную, так и отрицательную динамику. Незначительное увеличение уровня уроновых кислот отмечено у животных опытной и контрольной группы с остеоартрозом первой и второй стадии (Таблица 5, Таблица 6). У животных опытной группы с третьей и четвертой стадиями остеоартроза уровень уроновых кислот также увеличился, составив $11,8 \pm 1,03$ ммоль/л ($p \leq 0,05$) и $8,2 \pm 2,74$ ммоль/л соответственно. У животных же контрольных групп с данными стадиями патологии была отмечена отрицательная динамика, концентрация уроновых кислот снизилась до $9,8 \pm 1,5$

ммоль/л у животных с третьей, до $7,9 \pm 1,9$ ммоль/л - с четвертой стадией. Увеличение количества уроновых кислот у всех опытных животных свидетельствует о повышении концентрации гиалуронана в синовиальной жидкости. Это характеризует положительный терапевтический эффект применения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами при остеоартрозах, даже на третьей и четвертой стадиях поражения сустава.

Согласно полученным нами данным, в опытных и контрольных группах животных при любой степени остеоартроза возрастает отношение сульфатов к уроновым кислотам. При этом отмечено характерное повышение данного коэффициента в соответствии со стадийностью процесса. Например, у животных опытной группы с первой стадией до начала терапии данное отношение составляло $1,14 \pm 0,2$, а у животных с четвертой стадией возросло до $3,3 \pm 0,33$, при референсных границах $1,07 \pm 0,04$. У животных контрольных групп показатели сульфатно-уронового коэффициента были аналогичными (Таблица 6). Повышение сульфатно-уронового коэффициента говорит о нарастании количества сульфатированных глюкозаминогликанов (ГАГ) и снижении концентрации гиалуроната, определяющего основные вязко-упругие свойства синовиальной жидкости. Это согласуется с литературными данными о том, что при развитии патологического процесса в суставах синовиальная жидкость снижает свою смазочную способность и как следствие не выполняет свою лубрикационную функцию. Учитывая способность сульфатированных глюкозаминогликанов притягивать и удерживать молекулы воды за счет своих полианионных свойств, увеличение их концентрации в синовиальной жидкости может свидетельствовать также о гипергидратации хряща, что приводит к набуханию и размягчению коллагенового каркаса. Вероятно, с этим и связана потеря хрящом упругих свойств и его фибрилляция при остеоартрозе. После курса проведенной терапии у животных опытной группы отмечено снижение сульфатно-уронового коэффициента до $1,06 \pm 0,66$, что находилось в рамках референсных величин. У животных со второй, третьей и четвертой стадиями после окончания терапии также произошло существенное снижение данного показателя, однако он

находился выше референсных границ ($p \leq 0,01$, $p \leq 0,001$), что связано с тяжестью деструктивного процесса. В контрольных группах животных после курса терапии «Бонхареном» динамика была несколько иной. Окончание курса терапии для собак с первой и второй стадиями остеоартроза также характеризовалось снижением сульфатно-уронового коэффициента до $1,03 \pm 1,0$ и $1,37 \pm 0,28$ соответственно (Таблица 6). При этом очевидно, что в границы референсных значений вошли лишь показатели собак с первой стадией остеоартроза. По окончании же терапии у контрольных животных с третьей и четвертой стадиями остеоартроза отмечено значительное повышение сульфатно-уронового коэффициента до $2,07 \pm 0,53$ и $3,0 \pm 1,31$ ($p \leq 0,01$) соответственно. Такая динамика является неблагоприятной и свидетельствует о нарастании количества сульфатированных глюкозаминогликанов в синовиальной жидкости.

Таблица 5. Биохимические параметры синовиальной жидкости при терапии животных опытных групп с остеоартрозами (n=60, * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, * $p \leq 0,001$)**

Показатель	Интактные животные	ОА 1 стадии		ОА 2 стадии		ОА 3 стадии		ОА 4 стадии	
		До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
Уроновые кислоты, ммоль/л	$15,6 \pm 0,4$	$14,56 \pm 1,9$	$15,2 \pm 0,8$	$12,93 \pm 1,87$	$14,1 \pm 0,49^*$	$10,91 \pm 1,09$	$11,8 \pm 1,03^*$	$7,5 \pm 3,9$	$8,2 \pm 2,74$
Сульфаты ммоль/л	$15,74 \pm 0,35$	$16,6 \pm 0,4$	$16,21 \pm 0,53$	$17,1 \pm 0,9$	$15,98 \pm 0,44$	$18,3 \pm 0,2$	$16,73 \pm 0,98$	$25,4 \pm 1,3$	$20,8 \pm 0,9^{**}$
Сульфаты/Уроновые кислоты	$1,07 \pm 0,04$	$1,14 \pm 0,21$	$1,06 \pm 0,66$	$1,32 \pm 0,48$	$1,13 \pm 0,89^{**}$	$1,67 \pm 0,18$	$1,41 \pm 0,95^{**}$	$3,3 \pm 0,33$	$2,53 \pm 0,32^{***}$
Общий белок, г/л	$10,9 \pm 2,1$	$30,1 \pm 8,9$	$28,3 \pm 4,7$	$45,7 \pm 5,5$	$34,8 \pm 6,2^{**}$	$50,1 \pm 5,3$	$44,7 \pm 6,9^*$	$57,3 \pm 8,8$	$53,4 \pm 5,7^*$
Сиаловые кислоты, ммоль/л	$0,59 \pm 0,04$	$0,97 \pm 0,02$	$0,73 \pm 0,04^*$	$1,3 \pm 0,6$	$0,9 \pm 0,4^{**}$	$1,45 \pm 0,23$	$1,23 \pm 0,37^{***}$	$1,6 \pm 0,7$	$1,09 \pm 0,56^{***}$
Глюкоза, ммоль/л	$2,3 \pm 0,3$	$2,2 \pm 0,7$	$2,3 \pm 0,8$	$2,0 \pm 0,6$	$2,1 \pm 0,8^*$	$2,1 \pm 0,9$	$2,2 \pm 0,5$	$1,6 \pm 0,3$	$1,9 \pm 0,8$

Белки проникают в синовиальную жидкость путем диффузии через синовиальную оболочку. В норме концентрация общего белка в синовии в 3-4 раза ниже, нежели в сыворотке крови (в нашем случае у интактных животных она была равна $10,9 \pm 2,1$ г/л). Повышение уровня общего белка характеризует наличие

патологического процесса в суставе. При остром воспалительном процессе в десятки раз возрастает проницаемость сосудистого барьера синовиальной оболочки, что приводит к резкому увеличению концентрации общего белка в синовии. При хроническом дегенеративном процессе ситуация иная. Здесь аналогично прослеживается четкая взаимосвязь между концентрацией данного показателя и стадийностью процесса. Так, у исследуемых животных с остеоартрозом первой степени отмечалось лишь трехкратное увеличение уровня общего белка синовии в то время как при четвертой стадии концентрация общего белка возрастала в пять и более раз. Таким образом, в опытной группе животных с первой стадией остеоартроза уровень общего белка составлял $30,1 \pm 8,9$ г/л, а при четвертой стадии - $57,3 \pm 8,8$ г/л; в контрольной группе животных соответственно $28,9 \pm 2,1$ г/л при первой стадии и $59,5 \pm 7,1$ г/л при четвертой стадии. Из данных Таблицы 5 видно, что интраартикулярные инъекции обогащенной тромбоцитами аутоплазмы способствуют снижению уровня общего белка с синовиальной жидкости при остеоартрозе любой стадии. Это свидетельствует о снижении проницаемости сосудистого барьера синовиальной оболочки и об уменьшении деструктивных процессов в хряще. У животных группы контроля была отмечена несколько иная динамика. В частности, уменьшение концентрации общего белка отмечено лишь у собак с первой стадией остеоартрозного процесса (до $25,7 \pm 3,1$ г/л), в то время как у животных с второй, третьей и четвертой стадиями - значительное его повышение (до $40,4 \pm 5,3$ г/л, $60,7 \pm 6,9$ г/л и $65,8 \pm 7,5$ г/л соответственно).

Так как при остеоартрозе в суставе всегда имеется воспалительная реакция, то вполне логичным является присутствие маркеров воспаления в синовиальной жидкости. Повышение уровня сиаловых кислот в синовии больных животных опытных и контрольных групп указывает на признаки незначительного воспаления артикулярных тканей. В связи с тем, что воспалительная реакция при остеоартрозе не является доминирующей по отношению к дегенеративно-деструктивным процессам, уровень сиаловых кислот у больных животных несколько выше чем у здоровых, однако он не достигает критических значений.

Так, у животных опытной группы при первой стадии процесса концентрация данного показателя составляла $0,97 \pm 0,02$ ммоль/л, что несколько выше, чем у интактных животных ($0,59 \pm 0,04$ ммоль/л). Четвертая стадия остеоартроза у опытной группы животных характеризовалась дальнейшим повышением уровня сиаловых кислот, которые составили $1,6 \pm 0,7$ ммоль/л. Аналогичная ситуация и в группах контроля и связана она с увеличением деструктивных процессов в хряще и субхондральной кости, которые провоцируют усиление воспалительного ответа. Курс интраартикулярных инъекций обогащенной тромбоцитами аутоплазмы у опытных животных способствовал снижению концентрации сиаловых кислот в синовиальной жидкости (Таблица 5) на всех стадиях патологического процесса, однако референсных интервалов достигнуто не было. Также снижение показателя произошло и у контрольной группы животных с первой стадией остеоартроза (Таблица 6). У всех остальных контрольных групп животных отмечено возрастание концентрации сиаловых кислот в синовиальной жидкости. Эти данные наглядно демонстрируют противовоспалительный эффект обогащенной тромбоцитами аутоплазмы при интраартикулярном применении и практически полное отсутствие такового у «Бонхарена».

Глюкоза, как известно, используется синовиоцитами для синтеза гиалуронана. При воспалении уровень глюкозы понижается, соответственно снижается синтетическая активность синовиоцитов. Следствием этого является снижение концентрации гиалуроновой кислоты и уменьшение вязкости синовио. Уменьшение концентрации глюкозы в синовиальной жидкости больных животных указывает на наличие незначительной воспалительной реакции в суставе. У интактных животных уровень глюкозы составлял $2,3 \pm 0,3$ ммоль/л. Первая стадия остеоартроза характеризуется незначительным снижением концентрации глюкозы в синовио до $2,2 \pm 0,7$ ммоль/л в опытной группе и $2,1 \pm 0,3$ ммоль/л – в контрольной. У животных опытной и контрольной групп со второй и третьей стадиями остеоартроза концентрация глюкозы в синовиальной жидкости сохраняется примерно на одинаковом уровне, а значительно уменьшается на 4 стадии (Таблица 5, Таблица 6). Это свидетельствует об усилении воспалительного

процесса в суставе. После курса терапии у всех животных опытных групп содержание глюкозы в синовиальной жидкости немного увеличилось, а у животных с первой стадией даже вошло в границы референсных интервалов (до $2,3 \pm 0,8$ ммоль/л). У животных контрольной группы с первой и второй стадиями динамика также была положительной, концентрация глюкозы в синовиальной жидкости после проведенной терапии увеличилась до $2,2 \pm 0,5$ ммоль/л и $2,1 \pm 0,8$ ммоль/л соответственно, однако референсных значений достигнуто так и не было. Уровень глюкозы у животных контрольной группы с третьей и четвертой стадиями остеоартроза характеризовался отрицательной динамикой, так как на момент окончания терапии он уменьшился относительно стартовых значений (до $1,8 \pm 0,4$ ммоль/л и $1,3 \pm 0,9$ ммоль/л соответственно). Это означает усиление воспалительного процесса в суставе даже на фоне терапии «Бонхареном»

Таблица 6. Биохимические параметры синовиальной жидкости при терапии животных контрольных групп с остеоартрозами (n=60,* p ≤ 0,05, ** p ≤ 0,01, * p ≤ 0,001)**

Показатель	Интактные животные	ОА 1 стадии		ОА 2 стадии		ОА 3 стадии		ОА 4 стадии	
		До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
Уроновые кислоты, ммоль/л	$15,6 \pm 0,4$	$13,98 \pm 1,5$	$14,8 \pm 0,7^*$	$12,51 \pm 1,6$	$12,3 \pm 1,4$	$10,53 \pm 1,9$	$9,8 \pm 1,5^*$	$8,2 \pm 2,5$	$7,9 \pm 1,9$
Сульфаты, ммоль/л	$15,74 \pm 0,35$	$15,9 \pm 0,8$	$15,3 \pm 0,7$	$17,8 \pm 0,5$	$16,9 \pm 0,4$	$19,1 \pm 0,5$	$20,3 \pm 0,8$	$22,1 \pm 1,5$	$23,8 \pm 2,5$
Сульфаты/Уроновые кислоты	$1,07 \pm 0,04$	$1,13 \pm 0,5$	$1,03 \pm 1,0$	$1,42 \pm 0,3$	$1,37 \pm 0,28$	$1,81 \pm 0,26$	$2,07 \pm 0,53^*$	$2,6 \pm 0,6$	$3,0 \pm 1,31^{**}$
Общий белок, г/л	$10,9 \pm 2,1$	$28,9 \pm 2,1$	$25,7 \pm 3,1$	$39,6 \pm 6,3$	$40,4 \pm 5,3$	$53,6 \pm 4,5$	$60,7 \pm 6,9$	$59,5 \pm 7,1$	$65,8 \pm 7,5^*$
Сиаловые кислоты, ммоль/л	$0,59 \pm 0,04$	$0,8 \pm 0,2$	$0,6 \pm 0,5$	$1,2 \pm 0,9$	$1,3 \pm 0,8$	$1,5 \pm 0,5$	$1,7 \pm 0,9$	$1,8 \pm 0,6$	$2,1 \pm 1,3$
Глюкоза, ммоль/л	$2,3 \pm 0,3$	$2,1 \pm 0,3$	$2,2 \pm 0,5$	$1,9 \pm 0,5$	$2,1 \pm 0,8$	$2,1 \pm 0,3$	$1,8 \pm 0,4^*$	$1,5 \pm 0,6$	$1,3 \pm 0,9$

Таким образом, полученные данные позволяют говорить о том, что биохимические показатели синовиальной жидкости животных опытной группы после проведенного лечения достоверно отличаются от показателей животных группы контроля и обусловлены хондропротективным действием факторов роста, содержащихся в обогащенной тромбоцитами аутоплазме. Метаболические сдвиги в состоянии суставной среды в опытной группе животных связаны с активацией синтеза гиалуроновой кислоты, снижением в среде продуктов деградации хряща и признаков воспаления артикулярных тканей.

3.3.5. Цитологическая характеристика синовиальной жидкости при лечении больных остеоартрозами животных

Цитологический анализ синовиальной жидкости в течение ряда лет рекомендуется авторами для проведения дифференциальной диагностики артропатий [5,60,73,79,96]. При проведении данного анализа имеется возможность не только дифференцировать воспалительную патологию от дегенеративно-дистрофической, но и проводить контроль терапии.

Таблица 7. Цитологический состав синовиальной жидкости при терапии животных опытных групп с остеоартрозами (n=60, * p ≤ 0,05, ** p ≤ 0,01, * p ≤ 0,001)**

Показатель	Интактные животные	ОА 1 стадии		ОА 2 стадии		ОА 3 стадии		ОА 4 стадии	
		До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
Цитоз, ×10 ⁶	0,38±0,21	0,39±0,56	0,37±0,41*	0,57±0,28	0,49±0,37**	0,76±0,17	0,68±0,87***	0,95±0,89	0,84±0,53***
Нейтрофилы %	5,33±0,34	13,33±1,09	15,07±0,35**	12,07±0,93	16,2±0,25***	16,4±1,22	16,13±0,27	21,14±1,72	15,27±0,52***
Лимфоциты, %	56,07±6,9	55,93±0,63	53,13±0,31	53,67±0,95	56,43±0,37*	46,05±1,09	50,04±0,75*	43,27±0,80	51,40±0,84***
Синовиоциты, %	23,27±5,85	12,80±0,51	14,2±0,44*	10,73±0,38	12,20±0,54*	5,20±0,83	7,40±0,80*	2,27±0,34	8,27±0,53***
Эритроциты, %	-	1,07±0,26	0,53±0,11	1,47±0,35	1,04±0,15	2,33±0,38	2,80±0,41*	2,63±0,41	2,52±0,34
Моноциты, %	4,2±0,75	1,53±0,42	1,23±0,15	2,67±0,50	2,25±0,34	5,07±0,43	4,53±0,16	3,54±0,76	2,13±0,41**
Макрофаги, %	10,25±2,33	13,75±0,94	12,67±0,35	16,39±1,84	10,80±0,73**	19,54±1,36	15,87±0,81**	23,43±2,11	17,21±0,96***
Недифференцированные клетки, %	2,25±0,45	4,35±0,67	5,80±0,35	5,47±0,50	3,53±0,41*	7,20±0,45	6,13±0,59	5,67±0,69	5,33±0,55
Рагоциты, %	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Морфологический состав синовиальной жидкости у интактных животных был представлен незначительным количеством нейтрофилов (5,33±0,34%), лимфоцитов (56,07±6,9%), синовиоцитов (23,27±5,85%), недифференцированными клетками (2,25±0,45 %), моноцитами (4,2±0,75 %) и макрофагами (10,25±2,33%). Рагоциты и эритроциты отсутствовали.

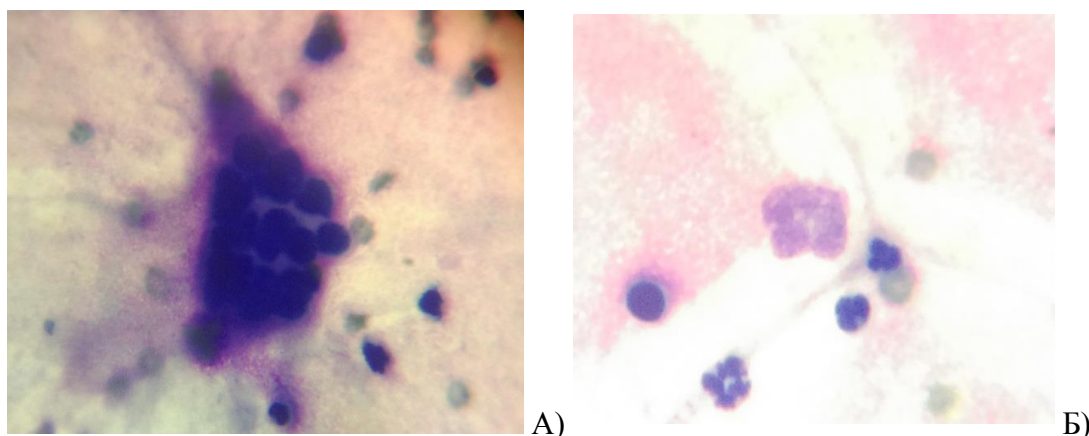


Рисунок 15 – Синовиоцитограмма интактного сустава. А – Скопление синовиоцитов. Б- Сегментоядерные нейтрофилы, лимфоцит, недифференцированная клетка.

Таблица 8. Цитологический состав синовиальной жидкости при терапии животных контрольных групп с остеоартрозами (n=60,* p ≤ 0,05, ** p ≤ 0,01, * p ≤ 0,001)**

Показатель	Интактные животные	ОА 1 стадии		ОА 2 стадии		ОА 3 стадии		ОА 4 стадии	
		До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
Цитоз, ×10 ⁶	0,38±0,21	0,40±0,21	0,40±0,47	0,55±0,69	0,50±0,97*	0,72±0,54	0,74±0,73*	0,91±0,38	0,93±0,65*
Нейтрофилы %	5,33±0,34	8,73±3,53	6,27±0,77*	10,55±2,45	12,53±0,87*	14,67±2,96	17,42±1,06*	20,61±4,97	23,47±0,89***
Лимфоциты, %	56,07±6,9	56,60±5,73	55,67±1,15	53,80±5,47	52,15±1,49	50,35±6,40	50,67±2,51	45,80±5,95	40,27±2,62*
Синовиоциты, %	23,27±5,85	13,35±2,50	19,05±1,52**	12,13±2,21	15,75±2,05*	10,64±1,85	6,87±2,81**	6,55±1,20	4,33±2,45*
Эритроциты, %	-	1,13±0,39	-	3,13±0,65	2,27±0,35	3,40±0,59	3,47±0,26	4,73±0,61	6,68±0,56*
Моноциты, %	4,2±0,75	3,37±0,54	3,93±0,42	4,13±0,64	4,48±0,58	2,53±0,66	1,27±0,25	2,49±0,57	-
Макрофаги, %	10,25±2,33	12,84±2,25	11,60±2,38	14,68±1,90	10,87±2,58*	15,40±2,92	16,75±2,34	17,23±2,24	20,60±1,90**
Недифференцированные клетки, %	2,25±0,45	7,47±1,10	7,75±0,21	4,56±0,97	3,93±0,71	6,63±0,79	7,13±0,65	6,54±1,46	7,63±0,89*
Рагоциты, %	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Как видно из представленных таблиц, остеоартрозный процесс в зависимости от стадии цитологически характеризуется умеренным или значительным цитозом, увеличением процентного содержания нейтрофилов, эритроцитов и макрофагов, уменьшением количества лимфоцитов, синовиоцитов и моноцитов.

Цитоз клеток синовиальной жидкости рассматривается некоторыми авторами как достаточно чувствительный показатель в отношении дифференциальной диагностики воспалительных заболеваний суставов от дегенеративно-дистрофических. При этом референсные значения данного показателя в гуманитарной медицине достаточно вариабельны, а в ветеринарной и вовсе отсутствуют. При проведении оценки такого показателя как цитоз синовиальной жидкости при остеоартрозе мы отталкивались от таковых значений у интактных животных - $0,38 \pm 0,21 \times 10^6$. При остеоартрозе первой стадии у животных опытной и контрольной группы цитоз увеличился незначительно, составив $0,39 \pm 0,53 \times 10^6$ и $0,40 \pm 0,22 \times 10^6$ соответственно. В дальнейшем, по мере усиления деструктивных процессов в суставе и увеличения стадии процесса наблюдалось повышение данного показателя у всех исследуемых животных. Таким образом, цитоз у животных опытной и контрольной групп с четвертой стадией остеоартроза до начала терапии составлял $0,95 \pm 0,89 \times 10^6$ и $0,91 \pm 0,38 \times 10^6$ соответственно. Проведение курса терапии обогащенной тромбоцитами аутоплазмой способствовало уменьшению цитоза у всех животных опытных групп. К примеру, у животных опытной группы с первой стадией остеоартроза показатель цитоза вошел в границы референсных значений и составил $0,37 \pm 0,41 \times 10^6$. В контрольной же группе животных с первой стадией остеоартроза после курса терапии «Бонхареном» положительной динамики не наблюдалось, цитоз по-прежнему составлял $0,40 \pm 0,47 \times 10^6$ (Таблица 8). Существенное снижение показателя после курса терапии произошло лишь в контрольной группе животных со второй стадией остеоартроза (до $0,50 \pm 0,97 \times 10^6$). Отрицательная динамика наблюдалась у контрольных животных с третьей и четвертой стадиями остеоартроза, цитоз синовиальной жидкости которых после курса терапии незначительно увеличился до $0,74 \pm 0,73 \times 10^6$ и $0,93 \pm 0,65 \times 10^6$ соответственно.

Увеличение количества нейтрофилов в синовиальной жидкости рядом авторов позиционируется как маркер воспалительной реакции в суставе. В условиях острого воспалительного процесса их количество может увеличиваться до 75-80 % от общего числа клеток. В нашем исследовании до начала терапии у

собак с первой стадией остеоартрозного поражения сустава в синовиоцитограмме увеличилось количество нейтрофилов (до $13,33 \pm 1,09$ % в опытной группе, до $8,73 \pm 3,53$ %- в контрольной). По мере усиление стадии поражения суставов процентное содержание нейтрофилов продолжало расти, достигая значений $21,14 \pm 1,72$ % и $20,61 \pm 4,97$ % в опытной и контрольной группе животных при четвертой стадии остеоартроза. Это говорит о нарастании воспалительной реакции в суставе при таком хроническом процессе как остеоартроз, однако данных за острый процесс не выявлено. Также не выявлено рагоцитов - нейтрофилов со специфическими включениями в цитоплазме. Появление данных клеток специфично для ревматоидного и септического артритов. Курс интраартикулярных введений обогащенной тромбоцитами аутоплазмы у животных опытной группы с третьей стадией остеоартроза не оказал никакого влияния на концентрацию нейтрофилов в синовиальной жидкости. У животных с первой стадией процесса их количество увеличилось на 1,74 %, у животных со второй стадией – на 4,13 %, а у собак с четвертой стадией, напротив, снизилось на 5,87 %. В группах контроля ситуация была несколько иной. У животных с первой стадией остеоартроза по окончанию курса терапии «Бонхареном» в синовиоцитограмме отмечено уменьшение количества нейтрофилов на 2,46 %, в то время как у животных со второй, третьей и четвертой стадиями остеоартроза регистрировали повышение данного показателя (Таблица 8).

Эритроциты в нормальной синовиальной жидкости не содержатся. Их появление, по-видимому, можно связать либо с повышенной проницаемостью сосудов синовиальной оболочки при воспалении, либо с некорректной аспирацией синовиальной жидкости. В нашем случае, у интактных животных при исследовании мазка синовиальной жидкости эритроцитов мы не обнаружили. Напротив, у животных с остеоартрозом, не зависимо от исследуемой группы отмечалось незначительное присутствие эритроцитов в синовиоцитограмме. При этом их процентное содержание увеличивалось в соответствии со степенью патологии. Так, у животных опытных групп до начала терапии количество эритроцитов увеличивалось от $1,07 \pm 0,26$ до $2,63 \pm 0,41$ %, у животных

контрольных групп – от $1,13 \pm 0,39$ до $4,73 \pm 0,61$ %. После курса терапии у животных опытных групп с первой, второй и четвертой стадиями остеоартроза отмечено снижение концентрации эритроцитов, в то время как у животных с третьей стадией их уровень оставался неизменным. Это показывает положительный терапевтический эффект применения обогащенной тромбоцитами аутоплазмы при гонартрозе, который выражается в снижении проницаемости сосудистого барьера синовиальной оболочки. У животных контрольных групп также наблюдалась как положительная, так и отрицательная динамика. По окончании курса терапии у животных с первой стадией остеоартроза эритроцитов в синовиоцитограмме не определялось (Таблица 8). На $0,86$ % уменьшилось количество эритроцитов после терапии у животных контрольной группы с остеоартрозом второй стадии. Неизменным осталось их количество после лечения в контрольной группе с третьей стадией остеоартроза, а вот у животных с четвертой стадией процентное содержание эритроцитов после терапии увеличилось на $1,95$ %. Это показывает, что терапия «Бонхареном» оказывает положительный терапевтический эффект на сосудистую сеть синовиальной оболочки лишь на начальных стадиях болезни.

Лимфоциты, как известно, представляют собой ведущий класс клеток синовиальной жидкости как в норме, так и при патологии. Известно, что при остеоартрозе в синовиальной жидкости преобладают лимфоциты и макрофаги. Данное соотношение может быть использовано в качестве дифференциально-диагностического критерия оценки артропатии. У интактных животных процентное содержание лимфоцитов составило $56,07 \pm 6,9$ %, макрофагов - $10,25 \pm 2,33$ %. У животных опытной и контрольной группы с первой и второй стадиями поражения сустава до начала терапии регистрировали незначительное увеличение количества лимфоцитов (Таблица 7, Таблица 8), что, вероятнее всего, связано с усилением воспалительного ответа на начальных стадиях заболевания. В дальнейшем происходило снижение данного показателя у животных как опытных, так и контрольных групп. Снижение процентного содержания в синовиальной жидкости, по-видимому, происходило из-за увеличения

концентрации макрофагов, количество которых возрастало в соответствии со стадиями остеоартроза. К примеру, у животных опытной и контрольной групп с первой стадией остеоартроза количество макрофагов составляло $13,75 \pm 0,94$ % и $12,84 \pm 2,25$ % соответственно, а при четвертой - $12,84 \pm 2,25$ % и $17,23 \pm 2,24$ %. После курса интраартикулярных инъекций обогащенной тромбоцитами аутоплазмы концентрация макрофагов у всех опытных животных снизилась, чего не произошло у контрольных групп животных. У них аналогичная динамика наблюдалась после курса терапии «Бонхареном» лишь при первой и второй стадиях остеоартроза, в дальнейшем происходило увеличение содержания данного показателя (Таблица 8).

Еще одним ведущим классом клеток при анализе синовиальной жидкости являются синовиоциты - клетки покровного слоя синовиальной оболочки (Рисунок 15). Их количество у интактных животных составило $23,27 \pm 5,85$ %. В литературе не отражены данные, касающиеся динамики синовиоцитов при остеоартрозах. В нашем исследовании до начала терапии отмечено снижение концентрации данных клеток при возрастании стадии остеоартроза. В связи с тем, что главная функция синовиоцитов - синтез гиалуронана, можно предположить, что с уменьшением их количества снижается концентрация гиалуронана в синовиальной жидкости, что при остеоартрозе является патогномоничным. На момент окончания терапии у всех животных опытных групп регистрировали повышение процентного количества синовиоцитов, следствием чего является увеличение синтеза гиалуронана и нормализация реологических свойств синовиальной жидкости. В контрольных группах животных с остеоартрозом первой и второй стадий наблюдалась аналогичная динамика. После курса проведенного лечения увеличилось количество синовиоцитов в синовиальной жидкости. Напротив, у животных с третьей и четвертой стадиями данной артропатии после курса терапии наблюдалась отрицательная динамика, проявляющаяся снижением процентного содержания синовиоцитов, что свидетельствует о дальнейшем нарушении гомеостаза суставной полости.

Количество неклассифицируемых клеток, согласно литературным данным, резко изменяется при патологиях сустава. Отмечено их увеличение при деструкции хряща и синовиальной оболочки. Полученные нами данные также это подтверждают. У интактных животных в синовиоцитогамме мы наблюдали лишь $2,25 \pm 0,45$ % таких клеток. У животных с остеоартрозом до начала терапии их количество возрастало и составляло от $4,35 \pm 0,67$ % до $7,47 \pm 1,10$ % (Таблица 7, Таблица 8). По окончании курса терапии у животных опытной группы с остеоартрозом первой стадии отметили увеличение концентрации неклассифицируемых клеток на 1,45 %. У животных со второй стадией произошло снижение данного показателя на 1,94 %, с третьей стадией - на 1,07 %. Лишь у животных с четвертой стадией остеоартроза количество данных клеток оставалось неизменным (Таблица 7). В контрольных группах животных сложилась иная ситуация. Положительная динамика по окончании курса терапии была отмечена лишь у животных со второй стадией остеоартроза, при этом количество клеток уменьшилось на 0,63 %. Неизменным оставалось их количество у животных с первой стадией патологии. Отрицательная динамика наблюдалась у животных с третьей и четвертой стадиями остеоартроза, где количество данных клеток увеличилось на 0,5-1,09 % после курса терапии. Из полученных данных можно сделать вывод о том, что терапия обогащенной тромбоцитами аутоплазмой способна уменьшать деструктивные процессы в суставе, что выражается в снижении количества неклассифицируемых клеток синовиальной жидкости. Однако, стоит отметить, что к числу неклассифицируемых клеток также относят и клетки, поврежденные в процессе приготовления мазка, поэтому трактовка показателя может быть весьма противоречивой.

Резюмируя данную информацию можно сделать следующее заключение. Цитологически остеоартрозный процесс характеризуется усилением цитоза синовиальной жидкости при увеличении стадии процесса. Также отмечается повышение процентного содержания нейтрофилов и макрофагов, уменьшение концентрации лимфоцитов и синовиоцитов. Цитологический анализ

синовиальной жидкости можно использовать с целью дифференциальной диагностики артропатии, а также при мониторинге терапии.

3.3.6. Внутрисуставные изменения в процессе лечения животных, больных асептическими остеоартрозами

Для наиболее четкой оценки макроморфологии суставных поверхностей коленного сустава и контроля терапии животным обеих групп выполняли диагностическую артроскопию. При этом в каждом суставе детально осматривали хрящ, мениски и связки, определяя их целостность, синовиальную оболочку и ее завороты, наличие или отсутствие патологического выпота и внутрисуставных тел.

У животных обеих групп до начала терапии при исследовании были обнаружены следующие внутрисуставные изменения: эрозии и дефекты хряща разной степени выраженности (Рисунок 17 А,Б), хондромалация I-IV степеней (вплоть до обнажения субхондральной кости) (Рисунок 16 А), локальный синовит, гиперплазированные синовиальные ворсины (Рисунок 17 Б), нити фибрина в полости сустава (Рисунок 16 Б). Полученные данные являются специфичными для остеоартрозного процесса, что согласуется с литературными данными.

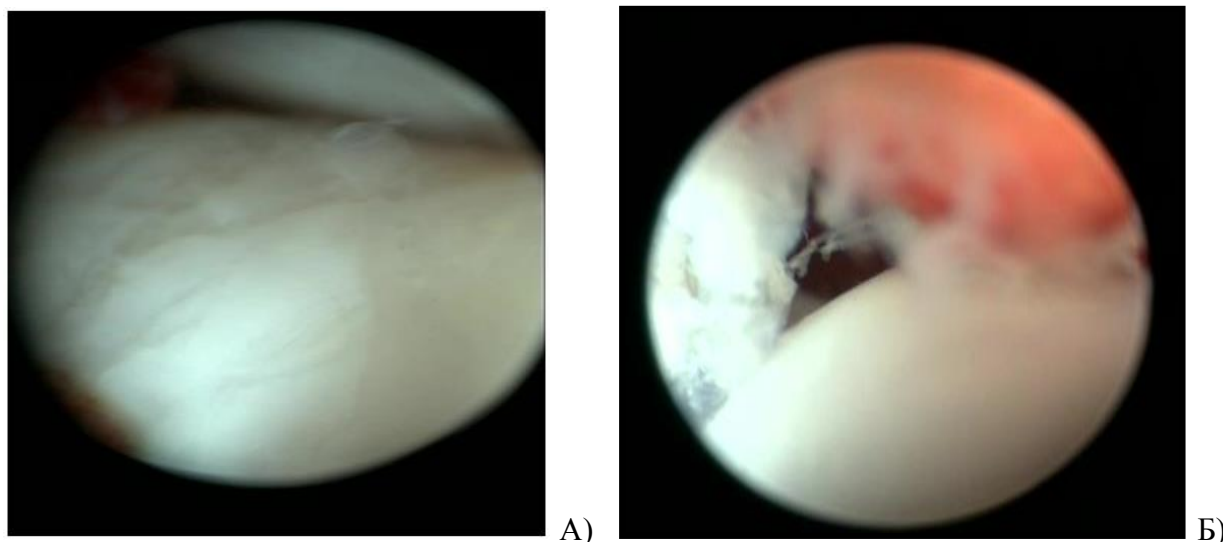


Рисунок 16 А- Остеоартроз коленного сустава 3 стадии до начала терапии. Животное опытной группы. Множественные узурации суставной поверхности хряща мыщелка бедренной кости с разволокнением. Хондромалация 3 степени. Б – Эндоскопическая картина после курса терапии. Сглаживание контуров суставного хряща мыщелка бедренной кости. Незначительно количество фибрина в полости сустава.

При оценке результатов лечения установлено, что у животных опытной группы по окончании курса интраартикулярных инъекций обогащенной тромбоцитами аутоплазмы наблюдалась стойкая положительная динамика, проявляющаяся полным отсутствием хромоты и болезненности. Полученные в конце терапии артроскопические записи свидетельствуют о явных регенеративных процессах в суставном хряще, которые проявлялись снижением степени хондромалиции, заполнением дефектов гиалинового хряща (Рисунок 16 Б), уменьшением или полным исчезновением остеофитов и нитей фибрина отсутствием синовита.

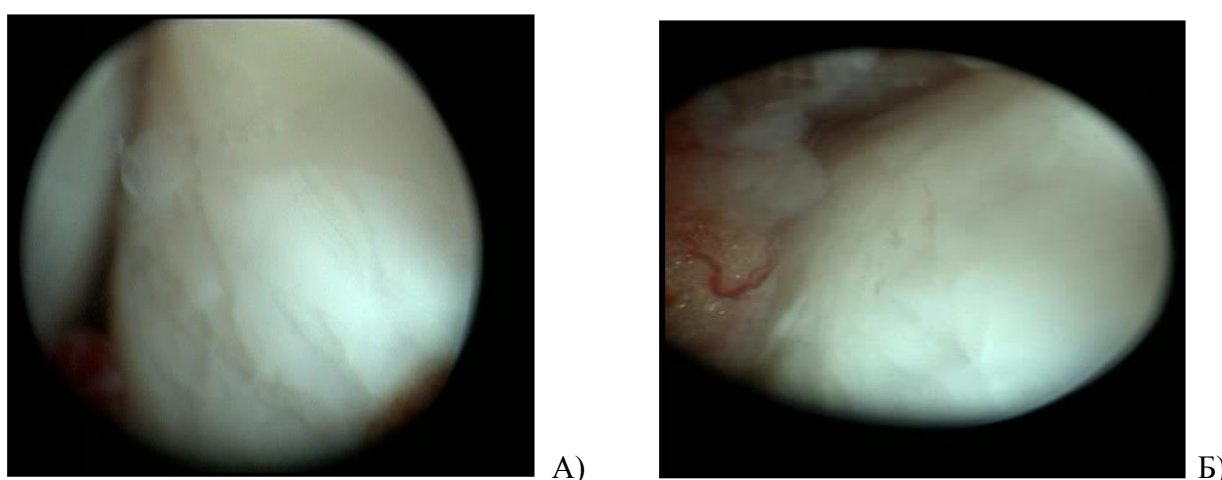


Рисунок 17 А - Остеоартроз коленного сустава 4 стадии до начала терапии. Животное контрольной группы. Обширная эрозия поверхности хряща, гиперплазия и васкуляризация синовиальных ворсин. Б - эндоскопическая картина после курса терапии. Эрозия хряща, отсутствие сглаживания суставной поверхности. Незначительное снижение васкуляризации синовиальных ворсин.

У животных контрольной группы, схема терапии которых предусматривала инъекции «Бонхарена», динамика была малозаметной. Тяжесть клинических проявлений остеоартроза по-прежнему коррелировала с артроскопической картиной. При исследовании не было обнаружено признаков регенерации хряща, дефекты суставной поверхности имели прежний размер, также был выражен синовит. Степень хондромалиции, соответственно, оставалась прежней.

Полученные данные, наглядно иллюстрирующие внутрисуставные изменения до и после лечения, позволяют сделать заключение о том, что введение обогащенной тромбоцитами аутоплазмы в сустав позволяет стимулировать

регенеративные процессы в суставном хряще и синовиальной оболочке за счет специфических цитокинов и факторов роста (бета-трансформирующий, инсулино-подобный и др.). Стандартная терапия, предусматривающая экзогенное введение гиалуроновой кислоты, как видно, не оказывает стойкого лечебного воздействия.

3.3.7. Ультрасонографическая характеристика остеоартрозного процесса у животных до и после лечения

Ультразвуковой метод диагностики патологий сустава относится к неинвазивным и позволяет провести предварительную оценку суставных структур до проведения других инвазивных диагностических манипуляций, таких как артроцентез, артроскопия и артротомия.

До начала терапии у животных обеих групп с первой стадией остеоартроза отмечали незначительные изменения в виде утраты четкости контуров поверхностной зоны хряща (Рисунок 18 Б). У животных со второй и третьей стадиями остеоартроза наблюдали локальное утолщение и диффузное повышение эхогенности суставного хряща, отсутствие однородности, повышение звукопроводимости субхондральной кости (Рисунок 18 А, Рисунок 19 Б, Рисунок 20 А, Рисунок 21 Б). Четвертая стадия остеоартроза помимо изменений контуров хряща характеризовалась наличием очагов деструкции хряща, утолщением капсулы сустава и синовиальной оболочки, свободными внутрисуставными телами.

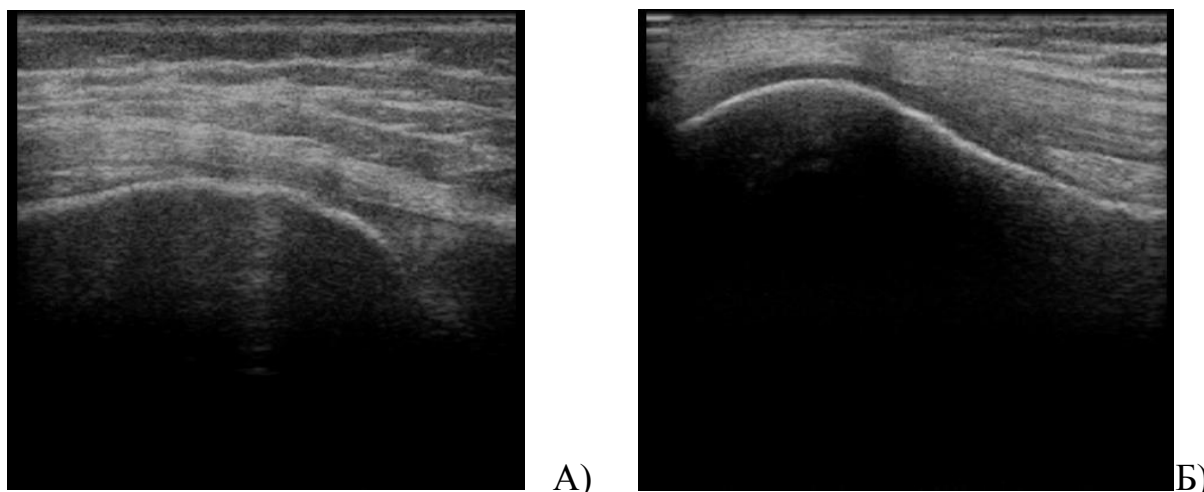


Рисунок 18 - Ультрасонографическая характеристика суставной среды при остеоартрозе. А- Бугристость поверхности хряща, усиление звукопроводимости субхондральной кости. Б - Локальное утолщение и утрата четкости контуров поверхностной зоны хряща.

Повреждения связок, сухожилий и менисков в процессе исследования выявлено не было. Капсула суставов визуализировалась в виде гипоэхогенной

утолщенной линии. Полость суставов была заполнена незначительным количеством анэхогенного содержимого, при этом его количество было прямо пропорционально степени остеоартроза. Полученные нами данные согласуются с данными ряда авторов относительно ультразвуковых изменений при остеоартрозе.

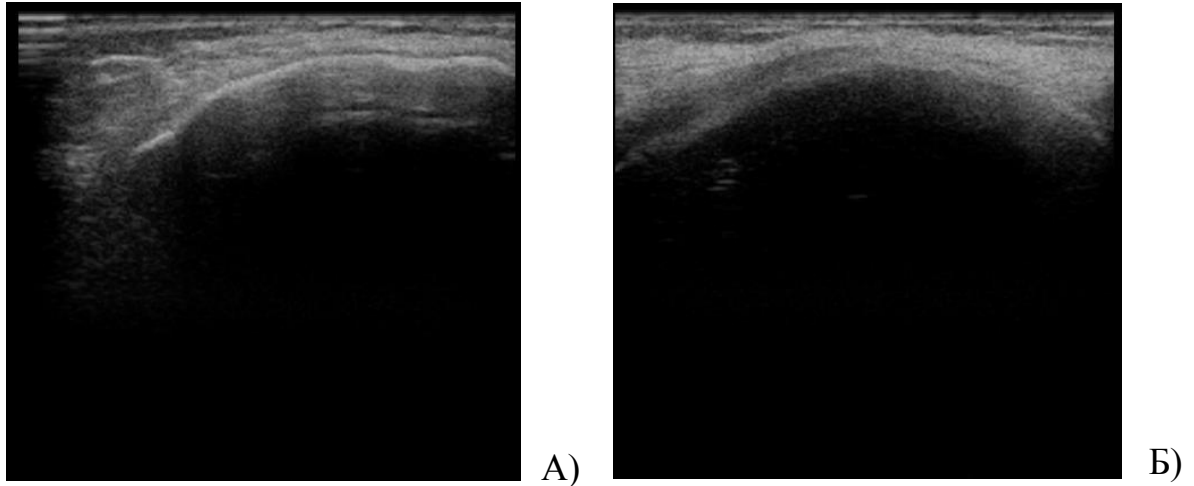


Рисунок 19 - Ультрасонографическая характеристика суставной среды при остеоартрозе. А- Диффузный субхондральный склероз. Б - Локальное утолщение и набухание хряща, субхондральная киста.

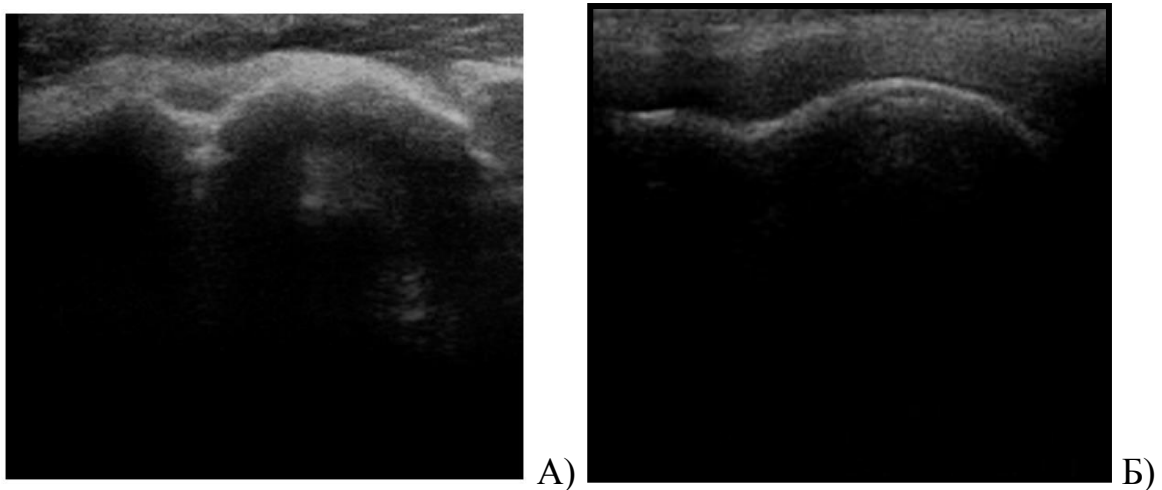


Рисунок 20 А- Остеоартроз коленного сустава 3 стадии, до начала терапии. Животное опытной группы. Зона мыщелков бедренной кости. Диффузный субхондральный склероз, утрата четкости контуров поверхностной зоны хряща. Б- Ультрасонограмма после курса терапии. Выравнивание контуров суставного хряща, улучшение звукопроводимости субхондральной кости.

Контрольное ультразвуковое исследование опытной группы собак показало определенные позитивные изменения. У животных с первой стадией остеоартроза суставной хрящ выровнялся по толщине, приобрел четкие контуры. Так же положительная динамика была отмечена и у животных со второй и третьей стадиями остеоартроза. При этом отмечалось выравнивание контуров поврежденного гиалинового хряща, а также снижение степени эхогенности, что характеризует восстановление матрикса хряща (Рисунок 20 Б). При этом отмечалось и понижение звукопроводимости субхондральной кости, что пропорционально снижению степени ее склерозирования.

Несмотря на тяжесть повреждений при остеоартрозе четвертой стадии у животных опытной группы, получавших интраартикулярные инъекции обогащенной тромбоцитами аутоплазмы, ультрасонографический контроль выявил незначительные улучшения. Они характеризовались сглаживанием и уменьшением в размерах очагов деструкции на поверхности хряща, что, по-видимому, характеризует степень его регенерации. Также отмечалось уменьшение эхогенности субхондральной кости.

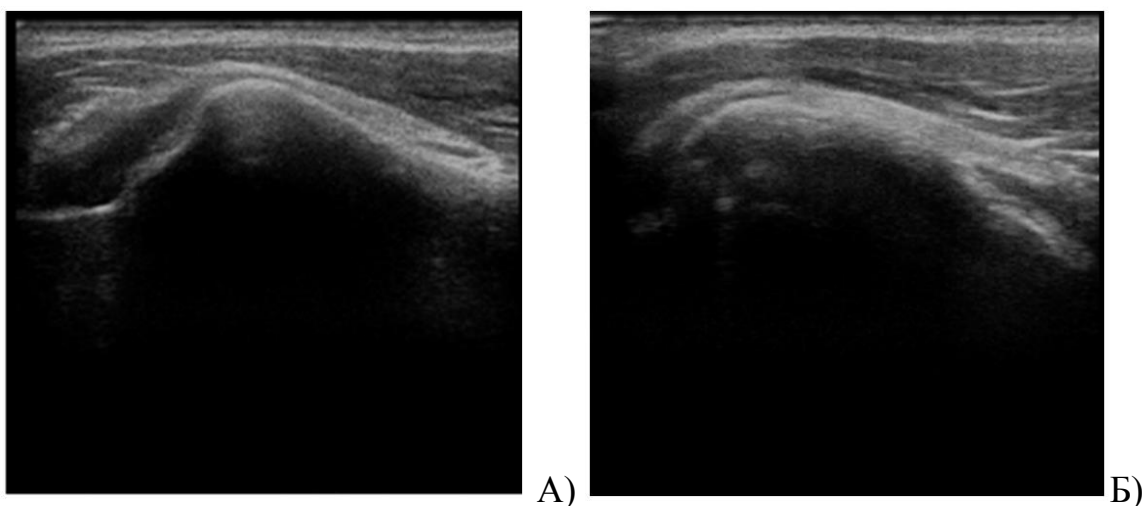


Рисунок 21 А - Остеоартроз коленного сустава 3 стадии, до начала терапии. Животное контрольной группы. Выбухание субхондральной пластинки, анэхогенный очаг в толщине хряща. Б - Ультрасонограмма после окончания курса терапии. Нарушение однородности суставного хряща, очаги деструкции зоны кальцифицированный хрящ-кость. Субхондральный склероз, кистозное перерождение субхондральной кости.

У животных контрольной группы также отмечена положительная динамика. Особенно, в отношении животных с первой и второй стадиями остеоартроза у которых, в частности, отмечено выравнивание контуров сустава и понижение его экзогенности.

Однако, в контрольной группе животных с третьей и четвертой стадиями остеоартроза значительных положительных изменений выявлено не было. Ультрасонографическая картина оставалась неизменной, что соответствовало клинической картине (Рисунок 21 А,Б). Лишь у отдельных животных (n=4) наблюдали незначительное увеличение объема синовиальной жидкости в суставе, что клинически проявлялось уменьшением болезненности. Вероятнее всего, в данном случае это связано с появлением буферной зоны между соприкасающимися суставными поверхностями, что и привело к уменьшению боли.

ГЛАВА 4. КЛИНИЧЕСКАЯ АПРОБАЦИЯ ТЕХНОЛОГИИ ХОНДРОРЕПАРАЦИИ

В завершении научной работы по теме диссертации мы провели клиническую апробацию данной технологии у животных с остеоартрозами коленного, тазобедренного, локтевого, плечевого и лучезапястного суставов.

При первичном приеме проводился сбор анамнеза, клинический осмотр всех животных, перкуссию, аускультацию и термометрию. Затем делали пробную проводку животного, определяя тип и степень выраженности хромоты. Пальпаторно в пораженном суставе определяли амплитуду движений, болезненность, наличие или отсутствие крепитации, болевую реакцию. Неврологическое тестирование проводили для исключения патологий центральной и периферической нервной системы.

После предварительного осмотра назначались дополнительные диагностические методы исследований – ультразвукография, рентгенография, анализ синовиальной жидкости. Диагноз устанавливали комплексно с учетом всех полученных данных.

В диссертационной работе приведено три клинических случая применения интраартикулярной инъекции обогащенной тромбоцитами аутоплазмы у животных с остеоартрозом коленного, локтевого и тазобедренного суставов.

1 клинический пример.

Собака, сука, лабрадор, 5 лет.

Диагноз: «Остеоартроз коленного сустава 3 стадии».

При первичном приеме установлены жалобы владельца на хромоту правой тазовой конечности в течение продолжительного периода времени. При осмотре определено нарушение стато-локомоторного акта в виде хромоты опирающего типа. Пальпацией отмечена выраженная болезненность, крепитация. Местная температура не повышена. Амплитуда движений в суставе уменьшена. Отмечается гипотрофия бедренной группы мышц. Неврологический осмотр отклонений не выявил. Anamnesis morbi: заболевание появилось впервые, ранее

лечения по этому поводу животному не проводили. Общеклинический и биохимический анализ крови отклонений не выявил. Рентгенография выявила типичные патогномоничные признаки остеоартроза (Рисунок 22 А).

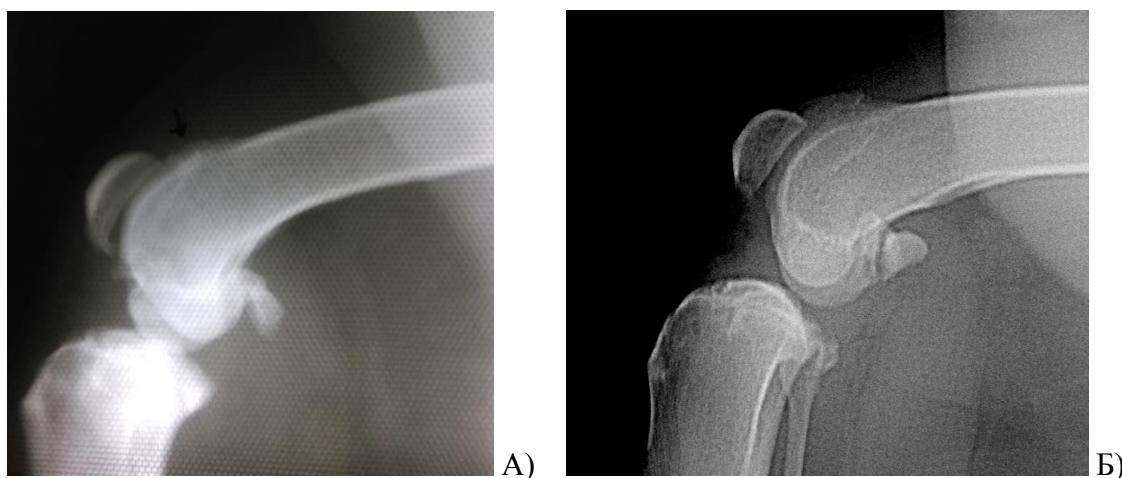


Рисунок 22 А – Собака, сука, 5 лет, лабрадор. Остеоартроз коленного сустава 3 стадии. Рентгенограмма до начала терапии, боковая проекция. Остеофиты, неравномерное сужение суставной щели. Б – Собака, сука, 5 лет, лабрадор. Рентгенограмма после окончания курса терапии. Остеоартроз коленного сустава 3 стадии. Рентгенограмма после курса терапии. Выравнивание плато большеберцовой кости, лизис остеофитов.

После постановки окончательного диагноза мы приступили к терапии. Проведен курс интраартикулярных инъекций обогащенной тромбоцитами аутоплазмы 4-хкратно с интервалом 7 дней. Неблагоприятных местных или системных побочных эффектов после первой инъекции, как и после последующих, отмечено не было.

На момент окончания терапии при осмотре отмечалась положительная динамика. Стато-локомоторный акт восстановился, хромота исчезла, начал восстанавливаться объем мышц. Крепитация и болезненность стали менее выражены, увеличилась амплитуда движений в суставе. При проведении контрольной рентгенографии (Рисунок 22 Б) отмечено исчезновение остеофитов.

Анатомо-функциональный результат отличный.

2 клинический пример.

Собака, кобель, коккер-спаниель, 3 г.

Диагноз «Остеоартроз локтевого сустава 2 стадии».

При первичном приеме регистрировали жалобы владельца на хромоту левой грудной конечности в течение года. Владельцем отмечено практически полное отсутствие опороспособности в последние две недели. При осмотре обнаружена хромота по типу висячей конечности. Пальпаторно при максимальном сгибании и разгибании локтевого сустава отмечена сильная болезненность. Местная температура не повышена. Амплитуда движений в суставе уменьшена. Неврологическим осмотром отклонений не обнаружено. Anamnesis morbi: заболевание появилось впервые год назад, в течение года животному проводили терапию в виде препаратов гиалуроновой кислоты и нестероидных противовоспалительных препаратов, однако эффект был кратковременный. Проведен общеклинический и биохимический анализ крови, все показатели находились в пределах референсных величин. При рентгенографическом обследовании обнаружены типичные патогномоничные признаки остеоартроза (Рисунок 23 А).

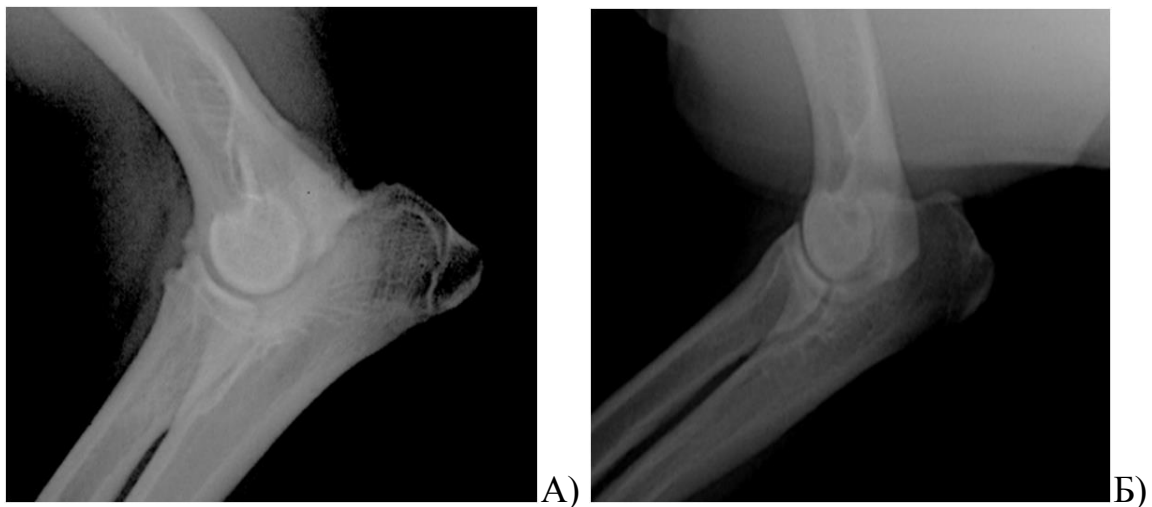


Рисунок 23 А - Собака, кобель, кокер-спаниель, 3 г. Остеоартроз локтевого сустава 2 стадии. Рентгенограмма до начала терапии, боковая проекция. Сужение суставной щели, краевые остеофиты, склерозирование субхондральной кости. Б- Собака, кобель, кокер-спаниель, 3 г. Рентгенограмма после курса терапии обогащенной тромбоцитами аутоплазмой. Исчезновение остеофитов, уменьшение склероза субхондральной кости.

После установки окончательного диагноза приступили к терапии. У животного натошак отбирали кровь в пробирку с цитратом натрия в количестве 10 мл, затем центрифугировали по описанной методике. Артроцентез проводили,

согнув конечность в локтевом суставе под углом 90° . Прокол выполняли на уровне каудальной поверхности головки плечевой кости, иглу вводили вертикально и продвигать в краниомедиальном направлении над каудальным окончанием головки плечевой кости, пока острие иглы не соприкоснется с суставным хрящем. В полость сустава вводили 0,2 мл обогащенной тромбоцитами аутоплазмы 3-хкратно с интервалом 7 дней. После первой процедуры на следующий день владелец сообщил о незначительном усилении болезненности и беспокойстве животного. Данный побочный эффект не потребовал коррекции и был быстропроходящим. Последующие же процедуры не спровоцировали никаких побочных эффектов.

На момент окончания терапии при осмотре отмечалась явная положительная динамика. Стато-локомоторный акт хоть улучшился, хромота по типу висячей конечности исчезла, сохранилась хромота по типу опирающей конечности после длительных нагрузок. При максимальном сгибании и разгибании конечности в суставе болевой реакции не наблюдалось. При проведении контрольной рентгенографии (Рисунок 23 Б) отмечено исчезновение остеофитов и уменьшение степени склерозирования субхондральной кости.

Анатомо-функциональный результат хороший.

3 клинический пример.

Собака, сука, 4 г, голден-ретривер.

Диагноз : « Остеоартроз правого тазобедренного сустава 2 стадии»

Владелец обратил внимание на периодическую хромоту правой тазовой конечности. При проведении пробной проводки отмечена хромота опирающего типа. Пальпация сустава вызывала болезненность, заключающуюся в беспокойстве животного. Незначительно выражена атрофия бедренной группы мышц. Anamnesis morbi: хромота впервые появилась два года назад, затем исчезла. Никаких лечебно-диагностических мероприятий не проводилось. В настоящий момент хромота имеет постоянный характер, усиливалась после длительных нагрузок. Общеклинический и биохимический анализы крови находятся в рамках референсных величин. Рентгенографически выявлены

признаки остеоартроза тазобедренного сустава, обусловленные дисплазией тазобедренного сустава степени В (Рисунок 24 А).

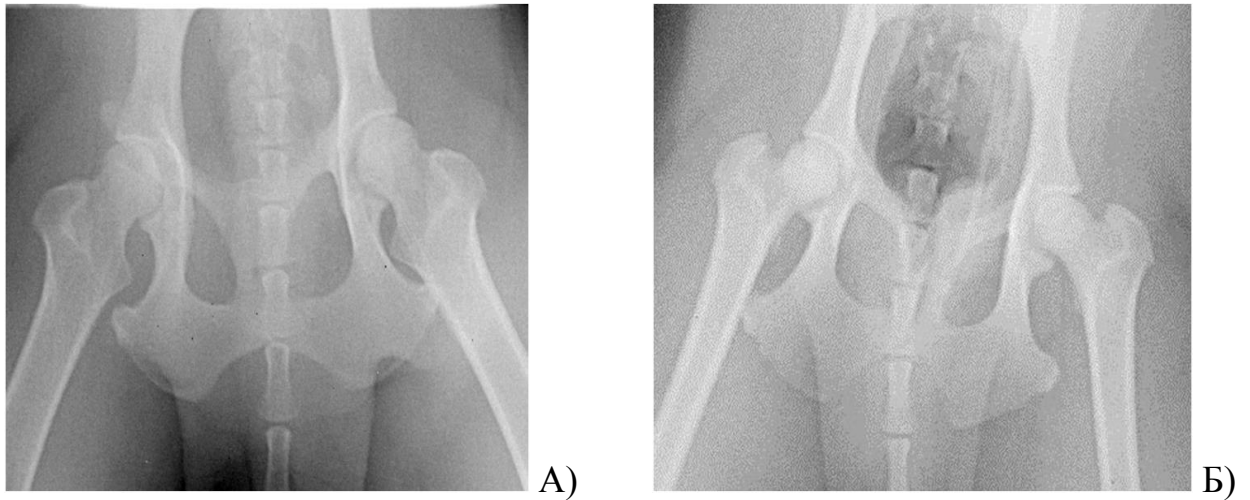


Рисунок 24 А- Собака, сука, 4 г, голден-ретривер. Остеоартроз правого тазобедренного сустава 2 стадии. Рентгенограмма до начала терапии, прямая проекция. Субхондральный склероз подвздошной кости. Б - Собака, сука, 4 г, голден-ретривер. Рентгенограмма тазобедренного сустава после курса терапии. Наличие четкости контуров вертлужной впадины и головки бедренной кости.

Установив окончательный диагноз, приступили к терапии. Пункцию тазобедренного сустава проводили без релаксации. Животное укладывали на стол, пунктируемым суставом вверх. Конечность удерживали параллельно поверхности стола. При этом угол между бедренной костью и позвоночником составлял около 90° . Артроцентез выполняли по краниодорсальному краю большого вертела под углом 45° по линии, идущей от центра тазобедренного сустава к коленному. В полость сустава вводили 0,4 мл обогащенной тромбоцитами аутоплазмы 4-хкратно с интервалом 7 дней. Проводимые процедуры не оказывали никаких местных или системных побочных эффектов.

К концу терапии отмечалась положительная динамика. Хромота существенно ослабла, появляясь лишь после длительных физических нагрузок (более 1,5 часов). Восстановился объем бедренной группы мышц. Самочувствие животного в целом улучшилось, увеличилась активность. На контрольной рентгенограмме (рисунок 24 Б) в конце терапии отмечено уменьшение

субхондрального склероза вертлужной впадины, наличие четкости контуров сустава. Анатомо-функциональный результат отличный.

ГЛАВА 5. ОШИБКИ И ОСЛОЖНЕНИЯ

При лечении больных остеоартрозами животных нам удалось избежать значительных осложнений и неудач, что свидетельствует о правильности и высокой эффективности предлагаемого метода лечения. Из незначительных отклонений в самочувствии животных стоит отметить усиление хромоты, которая исчезала самостоятельно, в первые сутки после введения аутоплазмы в сустав. По нашему мнению, это данное состояние было спровоцировано повышением давления в полости сустава из-за введенной аутоплазмы, что оказывало раздражающий эффект на рецепторы синовиальной оболочки и вызвало усиление болевой реакции. Других осложнений при правильно поставленном диагнозе, приготовленной согласно методике аутоплазме и корректном артроцентезе мы не наблюдали.

ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Обзор публикаций по теме остеоартроза у животных и человека, сопоставление этих данных с полученной в ходе проведения исследования информацией позволили нам выявить ряд закономерностей.

Известно, что остеоартроз является хроническим дегенеративно-дистрофическим заболеванием суставов, при котором в процесс вовлекаются суставной хрящ, синовиальная оболочка, капсула сустава, связки, периартикулярные мышцы и субхондральная кость [18,22,26,29,43,51,58,69,72,74,78,79]. В проведенных нами рентгенографических, ультразвукографических, эндоскопических исследованиях мы также обнаружили поражение как внутрисуставных, так и околоуставных структур. Описаны несколько концепций патогенеза остеоартроза, в основу которых положены нарушения микроциркуляции и трофики суставного хряща и субхондральной кости, травматизации, эндокринные и метаболические расстройства (матвеева, павлова, коваленко). Известно, что данное заболевание достаточно распространено в гуманитарной медицине и часто является причиной инвалидизации населения. Данные некоторых авторов свидетельствуют, что около 15% населения мира страдает от остеоартроза и 65% из них в возрасте 60 лет и старше [98,104]. В ветеринарной литературе отмечено, что заболевание чаще встречается у собак, чем у кошек [23]. При этом около 20 % больных животных оказываются в возрасте до 1 года, а около 95% - старше 5 лет [23,44]. Напротив, другие авторы сообщают, что в Соединенных Штатах Америки около 20% из 44 млн взрослых собак страдают остеоартрозом [132]. Факторами риска при этом названы возраст и пол животных, наличие избыточного веса, генетическая предрасположенность и травмы суставов. В проведенном нами статистическом исследовании за два года установлено, что в г. Саратове инцидентность суставной патологии у животных составляет 3,94 %, при этом на долю остеоартроза приходится 71,42 %, что совпадает с имеющимися данными об эпидемиологии остеоартроза [49,58]. Мы также согласны с авторами относительно

этиологии данного заболевания и не противоречим данным Стекольников А.А., Самошкина И.Б. и др. (2012 г.). Однако, в работе последних не представлены данные, относительно этиологии остеоартроза локтевого сустава, в то время как нами определены следующие причины: дисплазия, фрагментация венечного и крючковидного отростков, закрытые травмы суставов. Также, в их работе подавляющее большинство остеоартрозов приходится на тазобедренный сустав, в то время как в наших наблюдениях-на коленный.

В ряде работ авторы отмечают наличие полового деморфизма при остеоартрозе [22,58]. Проведенное нами исследование не согласуется с этой информацией, поскольку половой предрасположенности нами отмечено не было.

Клинически у всех исследуемых животных отмечали хромоту различного типа с разной степенью выраженности, регистрировали снижение активности животных. Пальпаторно отмечали снижение амплитуды движений в суставе, крепитацию и болезненность. Данные признаки являются патогномоничными для остеоартроза и описаны в значительном количестве работ [22,26,29,38,40,49,77,78,96,126]. Однако, мы отмечали, что не всегда клинические признаки присутствуют одновременно и коррелируют со степенью поражения сустава.

Наиболее доступным методом диагностики патологии принято считать рентгенографию [30,66,75,86,101,112,135]. Рентгенологическими критериями наличия заболевания считают неравномерное сужение суставной щели, наличие мелких и крупных остеофитов и субхондральный склероз, что мы и наблюдали у исследуемых нами животных. Однако, рентгенографически не представляется оценить толщину и степень поражения хряща, кроме того, невозможно оценить повреждения связок и менисков. Ультрасонография сустава позволяет оценить толщину всех слоев хряща, его эхоструктуру, а также наличие или отсутствие повреждений связок и менисков. При проведении ультрасонографического исследования коленного сустава у собак нами были обнаружены следующие изменения: изменение толщины и контуров хряща, нарушение эхогенности субхондральной кости, очаги деструкции хряща и субхондральной кости,

внутриставные тела. Это согласуется с данными авторов об ультразвукографических изменениях при остеоартрозе [1,32,35]. В процессе терапии у животных опытных и контрольных групп рентгенографическая и ультразвукографическая динамика была как положительной так и отрицательной. Например, у животных опытных групп мы отметили улучшения на всех стадиях процесса, в то время как у животных контрольных групп с третьей и четвертой стадиями процесса положительной динамики не наблюдалось. Это показывает эффективность интраартикулярных инъекций обогащенной тромбоцитами аутоплазмы на всех стадиях процесса в отличие от инъекций бонхарена.

Для оценки внутрисуставных изменений до и после терапии мы воспользовались диагностической артроскопией. В процессе исследования были обнаружены различные изменения, такие как хондромалиция, эрозии и дефекты хряща, локальный синовит, гиперплазия синовиальных ворсин. Это согласуется с имеющимися данными и позволяет классифицировать внутрисуставной процесс как остеоартроз [8,16,29,70,81]. После курса проведенной терапии у животных опытных групп наблюдали определенные положительные изменения, характеризующиеся исчезновением локального синовита, снижением степени хондромалиции, заполнением дефектов гиалинового хряща, уменьшением или полным исчезновением остеофитов и нитей фибрина. В группах контроля динамика была малозначительной, признаков регенерации хряща и синовиальной оболочки обнаружено не было. Заполнение дефектов на поверхности хряща вновь образованной тканью наиболее ярко характеризует хондрорепаративный потенциал обогащенной тромбоцитами аутоплазмы, однако характер этой ткани еще предстоит выяснить.

Известно, что в биохимическом составе синовиальной жидкости при остеоартрозе происходит ряд изменений [26,55,56,73,79]. В частности, снижается уровень уриновых кислот, увеличивается количество белка, незначительно снижается концентрация глюкозы, возрастает количество сульфатов. Это также подтверждается полученными нами данными. В нашем исследовании концентрация уриновых кислот уменьшалась постепенно параллельно с

увеличением стадии процесса, также возрастало количество общего белка, сиаловых кислот, сульфатов. Курс проведенных интраартикулярных инъекций обогащенной тромбоцитами аутоплазмы способствовал увеличению количества уроновых кислот в синовиальной жидкости на всех стадиях процесса и снижению концентрации общего белка, сульфатов. В целом, данные биохимические изменения характеризуют положительный терапевтический эффект обогащенной тромбоцитами аутоплазмы, выражающийся в восстановлении лубрикационных свойств синовиальной жидкости, а также в снижении проницаемости сосудистого барьера синовиальной оболочки. Однако, полученные нами данные расходятся с данными [96], которые утверждают, что уровень уроновых кислот в синовиальной жидкости собак с артрозом значительно ниже полученного нами. Более того, в процессе терапии при выраженном положительном клиническом эффекте, концентрация уроновых кислот продолжала снижаться.

Терапевтические подходы к лечению при обсуждаемой патологии многообразны. К числу наиболее часто применяемых методов относят применение нестероидных и стероидных противовоспалительных препаратов, препаратов гиалуроновой кислоты [18,26,28,38,40,44,49,57,65,78,88,95,108,115,118,126,130]. В наименьшей степени используются гомеопатические препараты [22,96]. Значительное внимание уделяется диетотерапии и физиопроцедурам [77,83,120]. Радикальное оперативное вмешательство рекомендуется лишь на терминальной стадии процесса, когда прием анальгетиков не позволяет купировать болевой синдром [26]. У всех перечисленных методов есть как недостатки, так и достоинства. К числу основных недостатков применения нестероидных противовоспалительных препаратов стоит отнести обилие побочных эффектов. Согласно имеющимся данным, применение таких препаратов способствовало появлению эрозивно-язвенных поражений слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта у 90% животных [65]. Также в ряду осложнений также отмечают кардиоваскулярные поражения и нефротоксичность [116,117]. По этой причине некоторые авторы рекомендуют у животных старшей возрастной группы перед началом терапии

проводить гематологический и биохимический скрининг, и при наличии каких-либо отклонений – воздержаться от применения данных препаратов [95]. Кроме того, имеются незначительные данные о том, что прием нестероидных противовоспалительных препаратов может усилить деструктивные процессы в суставе [40]. Вышеописанные изменения весьма ограничивают применение таких препаратов в клинической практике и способствуют поиску наиболее безопасных методов терапии. Проведенное нами исследование по изучению терапевтической эффективности интраартикулярных инъекций обогащенной тромбоцитами аутоплазмы при остеоартрозе продемонстрировало нам восстановление стато-локомоторного акта у животных при отсутствии побочных эффектов. Увеличилась физическая активность животных ввиду купирования болевого синдрома. Гематологические показатели опытных животных свидетельствовали об отсутствии угнетения звеньев эритро-, лейко- и тромбопоэза. Аллергических реакций также отмечено не было. Биохимический скрининг не выявил патологических отклонений со стороны функции печени и почек. Это согласуется с литературными данными об отсутствии побочных эффектов применения в гуманитарной медицине обогащенной тромбоцитами плазмы для регенерации дефектов различных тканей [2,3,7,17,20,21,24,25,34,39,46,54,61,67,87,89,90,93,97,105,107,109,113,125,136].

Использование группы лекарственных средств на основе гиалуроновой кислоты не отмечено риском возникновения опасных для жизни побочных эффектов. Имеются незначительные сообщения на тему антикоагуляционного эффекта таких препаратов [40]. Кроме того, имеются сообщения о периоде выведения гиалуроновой кислоты после внутрисуставного введения в течение 1-2 дней [132]. Существенным минусом является длительность терапии и стоимость таких препаратов. К тому же, терапевтическая эффективность не всегда ярко выражена. В одной из работ отмечено улучшение опороспособности конечности собак с вторичным остеоартрозом на фоне применения Хионата, однако остается неясным, на какой стадии заболевания это будет более эффективным [49]. В наших же исследованиях отмечено, что на начальных стадиях остеоартроза

введение гиалуроновой кислоты показывает положительный лечебный эффект. Применение же ее животным с третьей и четвертой стадиями остеоартроза не оказало аналогичного эффекта, стато-локомоторный акт полностью не восстановился. Применение обогащенной тромбоцитами плазмы интраартикулярно показало более значимые результаты даже на терминальных стадиях патологии.

Цитологический состав синовиальной жидкости при остеоартрозах претерпевает ряд изменений, включающих увеличение процентного содержания макрофагов, нейтрофилов, недифференцированных клеток. Полученные нами данные согласуются с мнением ряда авторов [79]. Также, в процессе исследования мы отметили появление эритроцитов в синовиальной жидкости, что, вероятно, связано с повышением проницаемости сосудистого барьера синовиальной оболочки при остеоартрозе. При проведении терапии мы отметили некоторые сдвиги у животных контрольных и опытных групп. В опытных группах достоверно уменьшилось количество эритроцитов и недифференцированных клеток, повысилось количество синовиоцитов, чего не произошло в контрольных группах. Данные изменения положительно характеризуют терапевтический эффект, оказываемый обогащенной тромбоцитами аутоплазмой.

В отношении цитоза синовиальной жидкости данные различных авторов весьма противоречивы. Например, одно из сообщений указывает, что цитоз в норме составляет 200-300 клеток/мл при воспалительных заболеваниях сустава – более 2000 клеток/млк, при дегенеративно-дистрофических - менее 1000 клеток/мкл [79]. Однако, указывается, что норма цитоза в синовиальной жидкости -10-100 клеток/мкл [5]. Другие же авторы нормальными значениями цитоза синовиальной жидкости у собак считают 3000 клеток/мкл, а при остеоартрозе - менее 5000 клеток/мкл [132]. В одной из работ у клинически больных животных с артрозами автор наблюдала цитоз $0,55 \pm 0,22 \times 10^9$ [96]. Учитывая противоречивость данных, для определения референсных интервалов цитоза мы провели его подсчет у интактных животных, а затем у животных с остеоартрозом. При этом у интактных животных показатель цитоза составил $0,38 \pm 0,21 \times 10^6$.

Повышение показателя у всех исследуемых животных наблюдалось параллельно с увеличением стадии процесса, что характеризует прогрессирование деструктивных процессов. В процессе терапии у опытных групп животных происходило снижение цитоза, что характеризует положительное влияние интраартикулярных инъекций обогащенной тромбоцитами аутоплазмы на гомеостаз суставной полости. При этом лишь на первой стадии процесса у животных опытной группы после курса терапии цитоз достиг референсных значений (снизившись от $0,39 \pm 0,56 \times 10^6$ до $0,37 \pm 0,41 \times 10^6$), в остальных же группах он снизился, но не приблизился к пороговым данным, что существенно характеризует тяжесть процесса. В группах контроля такой же динамики отмечено не было, цитоз у животных с первой стадией остеоартроза после курса терапии не изменился, со второй стадией - незначительно снизился, а у животных с третьей и четвертой стадиями – повысился.

Обобщая эти данные, можно сделать заключение о том, что интраартикулярные инъекции обогащенной тромбоцитами аутоплазмы оказывают стойкий положительный хондрорепаративный эффект. Это подтверждается достаточным количеством полученных нами клинических, гемо-биохимических, цитологических, ультрасонографических, рентгенографических и эндоскопических данных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Остеоартроз собак в г. Саратове встречается в 71,42% случаях от числа животных с суставной патологией, что составляет 3,94% от общего количества больных животных. Наиболее часто данная патология регистрируется у крупных пород собак (лабрадор, чау-чау и др.), однако достаточно высок процента заболеваемости у мелких пород собак (йоркширский терьер, китайская хохлатая собака, померанский и немецкий шпиц). Среди этиологических факторов при этом преобладают: травмы сустава или его компонентов (связки, мениски), дисплазии, избыточный вес животных.

2. Разработана и запатентована методика получения обогащенной тромбоцитами аутоплазмы.

3. Восстановление физической активности и стато-локомоторного акта у животных опытных групп даже на поздних стадиях процесса свидетельствует о высокой терапевтической эффективности интраартикулярных инъекций обогащенной тромбоцитами аутоплазмы.

4. Ультрасонографические и рентгенологические данные животных опытных групп свидетельствуют о восстановлении архитектоники компонентов сустава, которое выражается в реорганизации субхондральной кости и уменьшении степени ее склерозирования.

5. Обогащенная тромбоцитами аутоплазма способствует при локальном применении способствует лизису остеофитов, о чем свидетельствует уменьшение их размеров или полное исчезновение.

6. Увеличение концентрации уроновых кислот и снижение сульфатно-уронового коэффициента в синовиальной жидкости всех животных опытных групп на момент окончания терапии свидетельствует о повышении количества гиалуронана синовиального выпота, вследствие чего нормализуется его лубрикационная функция.

7. Понижение количества общего белка внутрисуставной жидкости у животных опытных групп после курса терапии свидетельствует о снижении де-

генеративно-дистрофических процессов в синовиальной оболочке и суставном хряще.

8. Курс терапии остеоартроза у животных обогащенной тромбоцитами аутоплазмой способствовал появлению тенденции к нормализации гомеостаза суставной полости, о чем свидетельствует понижение количества нейтрофилов в синовиоцитограмме и повышение уровня лимфоцитов.

9. Морфологические изменения при применении интраартикулярных инъекций обогащенной тромбоцитами аутоплазмы заключаются в снижении степени хондромалиции хряща, заполнением его дефектов, отсутствием генерализованного синовита.

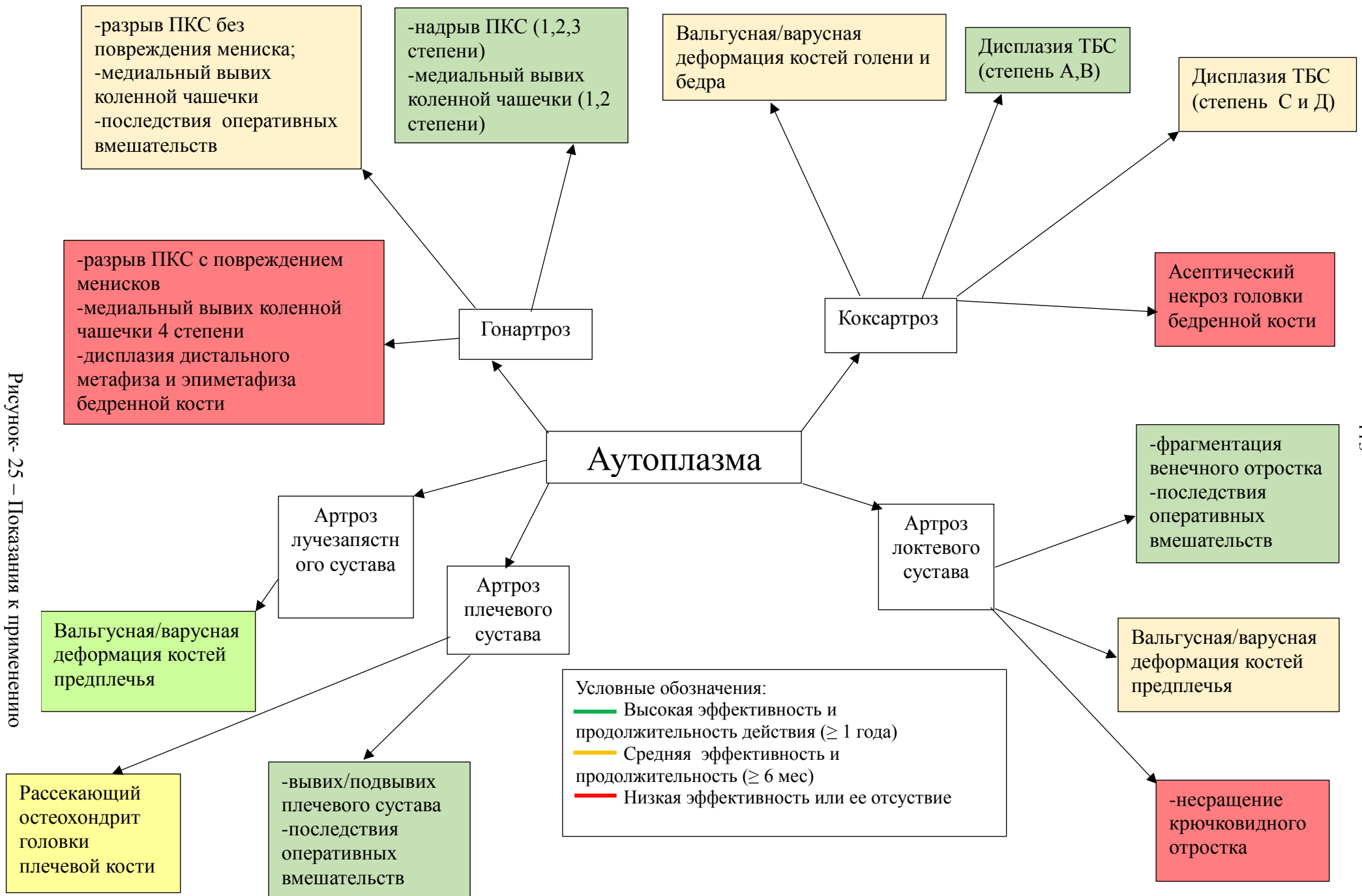
РЕКОМЕНДАЦИИ ПРОИЗВОДСТВУ

На основании проведенных нами исследований мы разработали показания к применению обогащенной тромбоцитами аутоплазмы при остеоартрозах различного генеза (Рисунок 25). При этом нами отмечена высокая терапевтическая эффективность и длительный период ремиссии после применения аутоплазмы при остеоартрозах коленного сустава, обусловленных надрывом передней крестовидной связки (1,2,3 степени), медиальном вывихе коленной чашки (1,2 степени); тазобедренного сустава – при дисплазии А и Б степени; плечевого сустава – вследствие вывиха/подвывиха или оперативного вмешательства; локтевого сустава - вследствие фрагментации венечного отростка или оперативных вмешательств.

Существенная терапевтическая эффективность и длительный период ремиссии наблюдались при применении аутоплазмы животным с остеоартрозами коленного сустава, обусловленными разрывом передней крестовидной связки без повреждения мениска, медиальным вывихом коленной чашечки (3 степени), а также при последствиях оперативных вмешательств. Аналогичная эффективность наблюдалась и при остеоартрозе тазобедренного сустава, вызванном дисплазией степени С и D, вальгусной или варусной деформациями костей голени и бедра. Значительно выраженная терапевтическая эффективность аутоплазмы наблюдалась при патологии локтевого сустава ввиду вальгусной или варусной деформации костей предплечья; плечевого сустава – из-за расслаивающего остеохондрита головки плечевой кости.

Низкая терапевтическая эффективность метода или ее отсутствие отметили при остеоартрозах коленного сустава, вызванных разрывом передней крестовидной связки с повреждением менисков, медиальным вывихом коленной чашечки 4 степени, дисплазией дистального метафиза и эпиметафиза бедренной кости. Остеоартрозы тазобедренного сустава слабо поддаются терапии аутоплазмой при асептическом некрозе головки бедренной кости, локтевого сустава – при несращении крючковидного отростка.

Рисунок- 25 – Показания к применению аутоплазмы.



СПИСОК ЦИТИРУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдуллаев, Р.Я. Ультрасонография коленного сустава / Р.Я. Абдуллаев, Г.В. Дзяк, Т.А. Дудник, А.А. Федько. -Харьков:Новое слово,2010.-125 с.
2. Ахмеров, Р.Р. Аутоstimуляция дермы при повышенном выпадении волос и аллопеции / Р.Р. Ахмеров, Р.Ф. Зарудий, И.Н. Рычкова, О.И. Бочкова // Экспериментальная и клиническая дерматокосметология.-2011.-№ 4.- с.- 36-40.
3. Ахмеров, Р.Р. Применение аутоплазмы, содержащей тромбоциты, в дерматокосметологии и стоматологии. Технология PlasmoliftingTM / Р.Р. Ахмеров, О.И. Короткова, М.В. Овечкина, Р.Ф. Зарудий, А.А. Воробьев // Пластическая хирургия и косметология.-2013.- № 1.- С.64-104.
4. Ахметжан, А.Д. Про и противовоспалительные цитокины и компоненты экстрацеллюлярного матрикса суставного хряща у больных с разными стадиями посттравматического деформирующего артроза суставов нижней конечности / А.Д. Ахметжан, З.А. Богоутдинов, И.А. Болотова, С.О. Давыдов, Д.Д. Цырендоржиев // Вестник новых медицинских технологий.-2009.-Т. XVI.-№ 2 – С. 118.
5. Базарный В.В. Синовиальная жидкость (клинико-диагностическое значение лабораторного анализа) / В.В. Базарный.- Екатеринбург, УГМА, 1999.- 62 с.
6. Бакарджиева А.Н. Лучевая диагностика заболеваний и повреждений коленного сустава до и после артроскопии : автореф. дис. канд. мед. наук : 14.01.13 / Бакарджиева Анна Николаевна.-Обнинск.-2010.- 17 с.
7. Батыршина, С.В. Восстановление структуры и количества волос при использовании аутоплазмы, богатой тромбоцитами / С.В.Батыршина, Р.Р. Ахмеров // Вестник последипломного медицинского образования.-2014.- №1.-С.53-54.
8. Беранек, Я. Артроскопия мелких животных / Я.Беранек // Материалы IX международной научно-практической конференции «Балтийский форум

- ветеринарной медицины и продовольственной безопасности 2013».- Санкт-Петербург.-2013.-С.-87-88.
9. Бетти, С. Руководство по лабораторной гематологии / С.Бетти.- Практическая медицина, 2011.- 352 с.
 - 10.Богдан, В.Г. Биологические эффекты тромбоцитарных концентратов в культуре фибробластов кожи человека /В. Г. Богдан, Д. А. Толстов, С. С. Багатка, М. М. Зафранская //Медицинский журнал.-2012.-№2.-С.22-25.
 - 11.Богдан, В.Г. Влияние обогащенной тромбоцитами плазмы на жизнеспособность, скорость роста, морфо-фенотипические и секреторные особенности мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани человека / В.Г. Богдан, С.С. Багатка, М.Ю. Юркевич, М.М. Зафранская и др. // Медицинский журнал. -2011. - № 1. – С.27-29.
 - 12.Быкова, Н.Л. Оценка показателей крови у животных / Н.Л. Быкова [и др.].-М.: «ИЦП Маска», 2007. – 57 с.
 - 13.Винников, Н.Т. Ветеринарная лабораторная диагностика / Н.Т.Винников.- Саратов,2006.-306 с.
 - 14.Волк, М.В. Хондрогенный потенциал мезенхимальных стволовых клеток / М.В. Волк, Е.С. Лобанок, П.А. Волотовский // Известия национальной академии наук Беларуси. Серия Биологических наук. - 2011.-№ 4.- С. 113-120.
 - 15.Волосенко, С.Е. Роль хондропротекторов в лечении гонартрозов / С.Е. Волосенко, Э.М. Нейматов, Т.А. Жарова, В.В. Морозов // Мануальная терапия.2010.-№3 (39).-С.70-76.
 - 16.Воронцов, А.А. Артроскопические методы диагностики и лечение патологий суставов у собак / А.А. Воронцов // Травматология и ортопедия. Материалы XIX Московского международного ветеринарного конгресса.- 2001. – С. 11.
 - 17.Габидуллина, Р.И. Морфологические особенности заживления рубца на матке при использовании метода плазмолифтинга в эксперименте / Р.И. Габидуллина, Э.Р. Гайнутдинова, А.А. Галеев, П.Н. Резвяков, С.В.

- Федотов, Г.О. Певнев // Вестник современной клинической медицины.- 2013.- Т. 6, вып. 5.- С.23-28.
- 18.Гаррифулов, Г.Г. Консервативное лечение деформирующего остеоартроза / Г.Г. Гаррифулов // Ревматология. Нефрология. Травматология. – 2008. - №1(25).- С.57-59.
- 19.Герасимов, А.С. Применение компьютерной томографии для диагностики болезней позвоночного столба у животных / А.С. Герасимов, Е.Л. Кемельман // Ветеринарный Петербург.-2003.- № 4.- С.18-21.
- 20.Глухов, А.А. Клинико-лабораторная оценка использования обогащенной тромбоцитами плазмы и струйной санации в лечении хронического экспериментального остеомиелита / А.А. Глухов, Е.В. Микулич, Н.Т. Алексеева // Вестник новых медицинских технологий.- 2003.- Т. XX.- № 2. – С. 108-112.
- 21.Глухов, А.А. Структурно-функциональные особенности заживления асептических ран мягких тканей при использовании обогащенной тромбоцитами плазмы крови / А.А. Глухов, А.П. Остроушко, С.Н. Семенов, Н.Т. Алексеева, Д.Ю. Бугримов // Вестник экспериментальной и клинической хирургии.-2010.-Т. 3.- №3.-С.210-213.
- 22.Давыдов, В.Б. Сравнительная оценка эффективности применения различных хондропротективных средств при остеоартрозах у собак : дис. ... канд.ветер.наук : 16.00.05 / Давыдов Вилен Борисович.- М., 2000.- 126 с.
- 23.Далина, А.Д. Влияние ростовых факторов TGF- β 1, IGF-I, BMP-2 и BMP-4 на хондрогенную дифференцировку мезенхимальных стволовых клеток, выделенных из синовиальной оболочки человека / А.Д. Далина, А.Е. Мухамбетова, Н.Д. Баптенев, Е.К. Раймагамбетов, В.Б. Окай // Биотехнология. Теория и практика.- 2013.-№ 1. -.С.12-15.
- 24.Дейкало, В.П. Обогащенная тромбоцитами плазма в лечении заболеваний и повреждений опорно-двигательного аппарата / В.П.

- Дейкало, А.Н. Мастыков, К.Б. Болобошко // Вестник ВГМУ.-2011.- Т. 10.- №4.- С.6-12.
25. Демкин, С.А. Обогащенная тромбоцитами аутологичная плазма в лечении пациентов с остеоартрозом коленного сустава: современное состояние вопроса /С. А. Демкин, Д. А. Маланин, Л. Н. Рогова, М. В. Демещенко /Волгоградский научно-медицинский журнал.-2013.-№4.-С 7-10.
26. Денни, Х. Р. Ортопедия собак и кошек / Х.Р. Денни, С.Д. Баттервоф.- М.: ООО «Аквариум Бук», 2004.-696 с. илл.
27. Десятниченко, К.С. Способ определения микроколичеств сульфатной серы в растворе озоленной кости / К.С. Десятниченко, Г.Д.Абрамова : рац. предложение КНИИЭКТОТ № 43 от 7.08.1985.
28. Диагностика и консервативное лечение заболеваний и повреждений опорно-двигательной системы: Справ.: В 8 кн. Кн.2. Остеоартроз / А.А.Корж, В.П.Черных, В.А.Филиппенко и др.-Х.: Основа, 1997. - 88 с.
29. Доманский, Н.К. Остеоартроз у собак (клинико-рентгено-морфологические корреляции / Н.К. Доманский, И.Б. Самошкин, А.А. Стекольников // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии.- 2012. -№ 2.- С. 33-40.
30. Дьячкова, Г.В. Клинические аспекты современной лучевой диагностики в травматологии и ортопедии/Г.В. Дьячкова, Ю.Л. Митина, К.А. Дьячков, Д.А. Алекберов, А.Н. Бакарджиева, Р.В. Степанов, Е.В. Скрипкин, Ю.М. Александров, А.В. Акуленко//Гений Ортопедии.-2011.- № 2.- С.-84-90.
31. Егорова, Е.А. Комплексное лечение больных коксартрозом с применением комбинированных методов физиотерапии : автореф. дис. канд. мед. наук :14.01.15, 14.03.11 / Егорова Елена Вячеславовна.- Санкт-Петербург, 2011.- 21с.
32. Ермак, Е.М. Ультразвуковые критерии оценки суставного хряща и субхондральной кости / Е.М. Ермак // Ультразвуковая и функциональная диагностика.-2005.-№5.- С.102-114.

- 33.Ермолаева, Е.Н. Церрулоплазмин - эндогенный регулятор функционального состояния тромбоцитов / Е.Н. Ермолаева, Л.В. Кривожикина, С.А. Кантюков, В.П. Яковлева // *Фундаментальные исследования. Медицинские науки.*-2014.-№7.- С.492-495.
- 34.Ефимов, Ю.В. Использование аутогенного тромбоцитарного геля при хирургическом лечении хронического пародонтита /Ю.В. Ефимов, А.В. Стоматов, Х.Х. Мухаев, Е.Н. Ярыгина, Е.Ю. Ефимова, К.А. Алешанов и тд. // *Медицинский алфавит. Стоматология.*- 2010.- № 1.- С.28-29.
- 35.Зубарев, А.В. Ультразвуковая диагностика в травматологии. Практическое руководство / А.В. Зубарев, В.Е. Гажонова, И.В. Долгова. – М.: Стром, 2003. – 142 с.
- 36.Иванов, С.Ю. Применение бедной тромбоцитами плазмы для устранения дефектов мембраны Шнейдера, возникающих при операции синус-лифтинга / С.Ю. Иванов, Н.Ф. Ямуркова, А.А. Мураев, С.А.Мигура // *Стоматология.*- 2012.-№2.-С. 52-56.
- 37.Калиновский А.А. Применение метода клеточно-регенеративной терапии при лечении патологий суставов и сухожилий у собак и лошадей / А.А. Калиновский, А.А. Воронцов, М.В. Жукова, М.Е. Савицкая, Д.В. Андреева, В.С. Горностаев, С.Б. Ставицкий // *Травматология и ортопедия. Материалы XIX Московского международного ветеринарного конгресса .*-2001.- С. 12.
- 38.Кейни, С. Артрит у кошек/ С.Кейни // *Veterinary Focus.*-2008.- № 2.- С.11-18.
- 39.Кесян, Г.А. Сочетанное применение обогащенной тромбоцитами аутоплазмы и биокомпазиционного материала коллаплан в комплексном лечении больных с длительно несрастающимися переломами и ложными суставами длинных костей конечностей / Г.А. Кесян, Г.Н. Берченко, Р.З. Уразгильдеев и др. // *Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова.*-2011.- №2.-С. 26-32.

- 40.Кирк, Р. Современный курс ветеринарной медицины Кирка / Р. Кирк, Д.Бонагуа. Пер. с англ. - М.: ООО «Аквариум-Принт», 2005. - 1376 с.
- 41.Кишкун, А.А. Руководство по лабораторным методам диагностики / А.А. Кишкун.- ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 798 с.
- 42.Клиническая биохимия / Под ред. В.А. Ткачука. - 2-е изд., испр. и доп. - 2004. - 512 с.
- 43.Коваленко, В.Н. Остеоартроз. Практическое руководство / В.Н. Коваленко, О.П. Борткевич.- Киев.Морион.-2003.-448 с.
- 44.Королева, С.В. Медикаментозное лечение остеоартроза (обзор литературы) / С.В. Королева, С.Е. Львов, Э.В. Григорьев, С.Е. Мясоедова // Травматология и ортопедия России.2006.9-№ 3 (41).-С.76-81.
- 45.Корр, С. Аспирация синовиальной жидкости из сустава / С. Корр // Veterinary focus. - №21.2. – С. 47 – 48.
- 46.Крайник, И.В. Обогащенная тромбоцитами плазма в лечении трофических язв / И.В. Крайник, А.С. Ремизов, И.Н. Сонькин, А.И. Атабеков, М.А. Маркин, А.В. Ильин // Вестник неотложной и восстановительной медицины.-2014.-Т. 15.-№1.-С.83.
- 47.Краснов В.В. Влияние локального комплексного введения аутологичной плазмы крови, аскорбиновой кислоты и глюкозы на заживление переломов таза в эксперименте / В.В. Краснов, Т.А. Силантьева / Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова.- 2014.- № 1.- С. 45-51.
- 48.Краснов, В.В. Стимуляция заживления переломов таза путем локального введения аутологичной плазмы крови в сочетании с метаболически активными веществами антиоксидантного и антигипоксантажного действия / В.В. Краснов, Т.А. Силантьева // Вестник Российской академии медицинских наук.- 2014. - № 7-8. - С. 137-143.
- 49.Кулешова Я.А. Влияние препарата Хионат на формирование суставного хряща у собак /Я.А. Кулешова, М.М. Захарова, С.Г. Раденска-Лоповок //

- Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние животные.-2006.- №3.-С.9-15.
- 50.Латышева, А.Г. Связь между ожирением и остеоартритом у людей и собак / А.Г.Латышева // Ветеринарный Петербург. -2013.-№4.-С. 3-5.
- 51.Макушин, В.Д. Экспериментальное моделирование остеоартроза коленного сустава у собак / В.Д. Макушин, М.А. Степанов, Т.А. Ступина // Биомедицина.-2012.- № 3.- С. 108-116.
- 52.Макушин, Д.В. К вопросу об активизации процессов, регулирующих восстановление структуры суставного хряща (обзор литературы и собственные данные) / Д.В. Макушин, Т.А. Ступина // Гений Ортопедии.- 2014.-№ 1.-С.82-88.
- 53.Мальчевский, В.А. Симптоматические препараты замедленного действия в лечении посттравматических остеоартрозов коленных суставов / В.А. Мальчевский, А.Ю. Евсеенко // Фундаментальные исследования.-2011.-№ 7.- С. 253-255.
- 54.Мастыков, А.Н. Обогащенная тромбоцитами плазма в лечении посттравматических хондропатий коленного сустава / А.Н. Мастыков, В.П.Дейкало, К.Б. Болобошко // Новости хирургии.-2012.- Т. 20. -№5 .-С.- 77-81.
- 55.Матвеева, Е.Л. Биохимические изменения в синовиальной жидкости при развитии дегенеративно-дистрофических процессов в коленном суставе : автореф. дис.....д-ра биол. наук : 03.00.04 / Матвеева Елена Леонидовна.- Тюмень, 2007.- 24 с.
- 56.Матвеева, Е.Л., Некоторые показатели биохимического анализа синовиальной жидкости /Е.Л. Матвеева, Е.С. Спиркина// Гений ортопедии.-2012.-№4.- С.104-106.
- 57.Машковский, М.Д. Лекарственные средства / М.Д.Машковский. – М.: ООО «Новая волна», 2005.-1200 с.:ил.
- 58.Меле, Э. Эпидемиология остеоартрита / Э. Меле // Veterinary Focus.- 2008.- №2.- С.4-10.

59. Мищенко, С.Н. Использование кормовых добавок для профилактики артритов и остеоартрозов многофункциональных суставов у собак / С.Н.Мищенко // Ветеринарная медицина.-2005.- № 2.- С.12-13.
60. Нетяга, С.В. Роль цитологического исследования синовиальной жидкости в диагностике дегенеративно-дистрофических изменений суставов / С.В. Нетяга, Г.М. Дубровин, А.А. Нетяга // Курский научно-практический вестник "Человек и его здоровье".-2005.-№1.-С.45-49.
61. Носков, С.М. Применение локального введения аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы у больной с язвенным дефектом кожи / С.М. Носков, Л.Ю. Широкова, А.В. Аршинов, С.Д. Дыбин, С.М. Майорова, О.М. Паруля // Научно-практическая ревматология.-2011.- № 1.- С.66-68.
62. Пат. 2410127 Российская Федерация. МПК А 61 М 1/36. Способ получения аутогенной активированной обогащенной тромбоцитами плазмы для стоматологии / Журавлёв В. П., Макеев О. Г., Иванов П. Ю., Улыбин А. И., Зубанов П. С. Опубл. 27.01.2011.
63. Пат. 2565413 Российская Федерация. МПК А 61 М 1/38, А 61 К 33/14, А 61 К 35/16, А 61 Р 19/02. Способ лечения остеоартроза у животных / Анников В.В., Ю.В. Пигарева; Заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО СГАУ им. Н.И. Вавилова .- Опубл. 20.10.2015. Бюл. № 29.
64. Пономарев, И. Новые возможности репарации повреждений суставного хряща у лошадей / И. Пономарёв, Д. Барневитц, К. Майер, Д. Пауль, М. Нойман, И. Вилке, М. Кочнева // Современная ветеринарная медицина.- 2014.-3.-С.46-47.
65. Пульняшенко, П.Р. Некоторые осложнения со стороны желудочно-кишечного тракта у мелких домашних животных при лечении болевого синдрома с использованием нестероидных противовоспалительных препаратов и глюкокортикоидов / П.Р. Пульняшенко // Ветеринария Кубани.-2007.-№3.-С.26-27.

- 66.Рентгенологическая диагностика дисплазии тазобедренных суставов у собак. Методические указания / В.Н. Митин, Ю.И. Филиппов, В.А. Лукьяновский, С.А. Ягников.- М.: «Аквариум ЛТД», К.: ГИППВ,2002.-32 с. с илл.
- 67.Рушай, А.К. Пластика инфицированных костных полостей и ложных суставов с использованием биотехнологии аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы PRP / А. К. Рушай, К. А. Бодаченко, А. В. Макаренко, Р. В. Чучварев, С. А. Бессмертный, Ф. В. Климовицкий, Я. В. Якубенко // Медицинский алфавит. Больница — все для ЛПУ.-2013.-№ 1.- С.28-29.
- 68.Рябков, А.Б. Влияние терапии хондроитинсульфатом на биохимические параметры синовиальной жидкости коленного сустава человека при остеоартрозе [Электронный ресурс] / А.Б. Рябков, В.И. Шишкин, Г.В. Кудрявцева // Исследовано в России.-2004 г.-№ 7.-С.2684-2695.
- 69.Сазонова, Н.В. Идиопатический остеоартроз коленного сустава I-II стадии: иммунологические аспекты / Н.В. Сазонова, М.В. Чепелева, Е.А. Волокитина, Н.С. Швед // Травматология и ортопедия России.-2008.- №3(49).-С.11-14.
- 70.Самойленко, А.А. Возможности артроскопии в дифференциальной диагностике заболеваний коленного сустава / А.А. Самойленко, А.И. Швец, С.А. Шалимов, К.В. Смалый // Український журнал екстремальної медицини імені Г.О.Можаєва.-2009.- Т. 10.- №3.-С.100-102.
- 71.Самошкин, И.Б. Артро-медуллярное шунтирование при лечении дефектов суставного хряща у животных / И.Б. Самошкин, В.Г. Булгаков, Н.С. Гаврюшенко, И.И. Самошкин, А.П. Курпяков, А.А. Зверев, А.В. Голубев //Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные.- 2011.-№ 3.- С. 22-27.
- 72.Симакова, Е.С. Клинико-диагностическое значение дислипидемии при остеоартрозе / Е.С. Симакова, Л.Е. Сивордова, Ю.В. Полякова, А.Б.

- Зборовский, Б.В. Заводовский // Кремлевская медицина. Клинический вестник .– 2013. – № 4.-С.74-77.
- 73.Ситняченко, О.В. Современные аспекты анализа синовиальной жидкости / О.В.Ситняченко // Український ревматологічний журнал.-2008.-№ 2.-С. 30-39.
- 74.Слесаренко, Н.А. Оптимизация репаративного хондрогенеза при индуцированном гонартрозе у животных / Н.А. Слесаренко, Е.О. Широкова // Ветеринарная медицина.-2011.- №3-4.- С.8-10.
- 75.Смирнов, А.В. Атлас рентгенологической диагностики первичного остеоартроза / А.В. Смирнов. – М.: ИМА-ПРЕСС, 2010. — 40 с.
- 76.Смирнова, Н.В. Метод терапии сухожильно-связочного аппарата лошадей мезенхимными стволовыми клетками / Н.В. Смирнова, П.В. Попрядухин, Н.О. Петрова, И.В. Ногтева, Н.В. Зеленецкий //Иппология и ветеринария.- 2012.- № 2 (4).- С. 40-42.
- 77.Сотников, В.В. Диагностика и лечение артритов у собак / В.В. Сотников, И.В. Марцинковская // Актуальные вопросы ветеринарной биологии.- 2010.- № 2 (6).-С. 38-41.
- 78.Сотников, В.В. Диагностика и лечение остеоартроза / В.В. Сотников // Ветеринарный Петербург. -2014.-№1.- С 11-13.
- 79.Сустав : морфология, клиника, диагностика, лечение / Под ред. В.Н. Павловой, Г.Г. Павлова и [и др.] // -М.: «МИА»,2011.-552 с.
- 80.Суховольский, О.К. Каниагил при поражении суставов и связок у собак / О.К. Суховольский, Е.В. Комарова // Ветеринария.- 2006.- № 5.- С. 60.
- 81.Трачук, А.П. Основы диагностической артроскопии коленного сустава / А.П. Трачук, В.М. Шаповалов, Р.М. Тихилов.- Санкт-Петербург, 2000.- 112 С.
- 82.Филлипов, Ю.И. Применение препарата «Артофит» в лечении хронических патологий суставов у собак / Ю.И. Филиппов, С.В. Позябин, В.В. Белогуров, М.Д. Качалин // Ветеринария, зоотехния и биотехнология.- 2015.- № 1. - С. 56-59.

- 83.Форментон, М. Физиотерапия собак: области применения и преимущества / М. Форментон // *Veterinary Focus*.-2011.- № 21.2.- С.11-18.
- 84.Чернина, Т.Н. Применение обогащенной тромбоцитами аутоплазмы в пластике дефектов альвеолярных отростков верхней челюсти и дна полости носа после операций хейло- и уранопластики / Т. Н. Чернина, А. В. Концевой // *Новости хирургии : рецензируемый научно-практический журнал*.Витебск.-2008.-Т.16.-С.75-79.
- 85.Чурюканов, М.В. Функциональная организация и терапевтический потенциал эндогенной каннабиоидной системы / М.В. Чурюканов, В.В. Чурюканов // *Экспериментальная и клиническая фармакология*.- 2004.- Т. 67.- № 2. -С. 70-78.
- 86.Шерстнев, С.В. Чтение рентгеновских снимков. Рентгенодиагностика травматических повреждений, заболеваний, инородных тел у кошки и собаки / С.В. Шерстнев.- Филантроп, 2002. – 118 с.
- 87.Шилкин, А.Г. Клинические результаты применения методы плазмы, обогащенной тромбоцитами (PRP-технологии) в ветеринарной офтальмологии / А.Г. Шилкин, Д.А. Ротанов, Т.Н. Павлова, К.А. Новикова // *Труды Московского международного ветеринарного конгресса*.-2013.-С.112-114.
- 88.Ширинская, Н.В. Особенности геликобактерной инфекции у пациентов с остеоартрозом на фоне прием ингибиторов / Н.В. Ширинская, В.А. В. А. Ахмедов, Е.Ю. Урванцева, Н.П. Кириченко, А.С. Кудренко, Е. В. Титова // *Сибирский медицинский журнал*.- 2010.- № 2.- С. 28-30.
- 89.Широкова, Л.Ю. Лечение вертебральных энзимов: кортикостероиды или тромбоцитарные цитокины? / Л.Ю. Широкова, О.М. Паруля, В.А. Фуфина, В.В. Лаврухин, И.Г. Красивина, А.С. Носкова // *Вестник РУДН. Серия Медицина*.-2009.-№ 4.- С.589-590.
- 90.Широкова, Л.Ю. Локальная терапия гонартроза аутологичной, обогащенной тромбоцитами плазмы / Л.Ю. Широкова, С.М. Носков,Т.И.

- Бахтиарова, А.В. Снигирева, Т.С. Носкова // Современные технологии в медицине.-2012.- №1.- С.97-100.
91. Широкова, Л.Ю. Роль цитокинов в патогенезе остеоартроза / Л.Ю. Широкова, С.М. Носков, О.М. Паруля, О.Г. Козлова, Р.М. Нагибин, Л.Н. Долгова, Е.Б. Абросимова // Цитокины и воспаление.-2010.-Т. 9.-№ 4.- С 16-19.
92. Шишканова, С.В. Тромбоциты. Диагностическое значение. Особенности подсчета. Алгоритм действий при тромбоцитопении / С.В. Шишканова // Лабораторная диагностика в ветеринарной медицине.- 2013.- С.45-58.
93. Юсова, Ж.Ю. Комбинированный метод коррекции инволюционных изменений кожи / Ж.Ю.Юсова, А.О.Кузнецова // Экспериментальная и клиническая дерматокосметология.-2013.-№ 5.-С.47-53.
94. Ягников, С. А. Симптоматология и техника тестирования неврологических расстройств у собак / С. А. Ягников, Я. А. Кулешова // Ветеринарная клиника.- 2006. - № 11. - С. 25-29.
95. Ягников, С.А. Нестероидные противовоспалительные препараты в стандарте лечения хромоты у собак / С.А. Ягников, О.А. Кулешова // Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные.- 2012.- № 3.- С. 6-13.
96. Якимчук, Е.А. Клинико-морфологическое обоснование эффективности применения кафорсена при лечении животных с переломами, асептическими артритами и артрозами : дис.... канд. ветер. наук : 06.02.01 / Якимчук Елена Александровна.- Саратов, 2013.-153 с.
97. Aghaloo1, T. L. Evaluation of platelet-rich plasma in combination with freeze-dried bone in the rabbit cranium / T. L. Aghaloo1, P. K. Moy, E. G. Freymiller // Clinical Oral Implants Research.-2005.-Vol. 16.-№ 2.- P. 250–257.
98. Alekseeva, L.I. Osteoarthritis and comorbidities / L.I. Alekseeva, E.L. Nasonov // Medicographia.- 2013.- № 35.- P.152-157.
99. Anitua, E. Antibacterial effect of plasma rich in growth factors (PRGF®-Endoret®) against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*

- strains / E. Anitua, R. Alonso, C. Girbau, J. J. Aguirre, F. Muruzabal, G. Orive // *Clinical and Experimental Dermatology*.-2012.-Vol. 37.-№ 6.-P. 652–657.
100. Bitter, T. A modified uronic acid carbazole reactions / T. Bitter, H. M. Muir // *Anal. Biochem.* - 1962. - Vol. 4.- No 4. - P. 330-334.
101. Burk, R. - *Small Animal Radiology and Ultrasound: A Diagnostic Atlas and Text* / R. Burk, D. Feeney.- Hardcover, 2003.- 784 p.
102. Cooper, C. Efficacy and safety of oral strontium ranelate for the treatment of knee osteoarthritis: rationale and design of randomised, double-blind, placebo-controlled trial / C. Cooper, J.-Y. Reginster, R. Chapurlat, C. Christiansen, H. Genant, N. Bellamy, W. Bensen, F. Navarro, J. Badurski, E. Nasonov, X. Chevalier, P.N. Sambrook // *Current Medical Research and Opinion*.- 2012. - T. 28. - № 2. - P. 231-239.
103. Cooper, C. Epidemiology of Osteoarthritis /C. Cooper, E. Dennison, M. Edwards , A. Litwic // *Medicographia*.-2013.-№ 35.- P.145-151.
104. Cuervo, B. Hip Osteoarthritis in Dogs: A Randomized Study Using Mesenchymal Stem Cells from Adipose Tissue and Plasma Rich in Growth Factors / B. Cuervo, M. Rubio, J. Sopena, J. Vilar, M. Morales, R. Cugat, J. Carrillo // *Int. J. Mol. Sci.*- 2014.- № 15.-P.-13437-13460.
105. Daif, E. T. Effect of autologous platelet-rich plasma on bone regeneration in mandibular fractures / E. T. Daif // *Dental Traumatology*.-2013.- Vol. 29.- № 5.- P. 399–403.
106. D'Anjou, M. Osteophytosis, Subchondral Bone Sclerosis, Joint Effusion and Soft Tissue Thickening in Canine Experimental Stifle Osteoarthritis: Comparison Between 1.5 T Magnetic Resonance Imaging and Computed Radiography / M. D'Anjou, M. Moreau, É. Troncy, J. Martel-Pelletier, F. Abram, J. Raynauld, J. Petellier // *Veterinary Surgery*.-2008.-Vol. 37.-№ 2.- P. 166–177.
107. Dionyssiou, D. The effectiveness of intralesional injection of platelet-rich plasma in accelerating the healing of chronic ulcers: an experimental and

- clinical study / D. Dionyssiou, E. Demiri, P. Foroglou, A. Cheva, N. Saratzis, C. Aivazidis, G. Karkavelas // *International Wound Journal*.-2013.- Vol. 10.-№ 4.- P. 397–406.
108. Duncan, B. Expression and activity of COX-1 and 2 and 5-LOX in joint tissues from dogs with naturally occurring coxofemoral joint osteoarthritis / B. Duncan, X. Lascelles, S. King, S. Roe, D. J. Marcellin-Little, S. Jones // *Journal of Orthopaedic Research*.-2009.-Vol. 27.-№ 9.-P. 1204–1208.
109. Foster, T. E. Platelet-Rich Plasma. From Basic Science to Clinical Applications / T. E. Foster, B. L. Puskas, B. R. Mandelbaum, M. B. Gerhardt, S. A. Rodeo // *The American Journal of Sports Medicine*.-2009.-- Vol. 37.- № 11.-P. 2259-2272.
110. Holloway, H. Benefits of continuous long-term treatment of canine degenerative joint disease with carprofen / H. Holloway, A. Robinson, T.P. Mailand // *Revue Méd. Vét.*- 2012.- № 2.-P. 95-104.
111. Inerot, S. Proteoglycan alterations during developing experimental osteoarthritis in a novel hip joint model / S. Inerot, D. Heinegard, S.-E. Olsson, H. Telhag, L. Audell // Proteoglycan alterations during developing experimental osteoarthritis in a novel hip joint model. *Journal of Orthopaedic Research*.-1991.-Vol. 9.-№ 5.- P. 658–673.
112. Kellgren, J.H. Radiological assessment of osteoarthrosis / J.H. Kellgren, J.S. Lawrence // *Ann. Rheum. Dis.*- 1957.-№ 16.-P. 494–501.
113. Kotsovilis, S. The adjunctive use of platelet-rich plasma in the therapy of periodontal intraosseous defects: a systematic review / S. Kotsovilis, N. Markou, E. Pepelassi, D. Nikolidakis // *Journal of Periodontal Research*.- 2010.- Vol. 45.-№ 3.- P. 428–443.
114. La Porta, C. S. Involvement of the endocannabinoid system in osteoarthritis pain / C. La Porta, S. A. Bura, R. Negrete, R. Maldonado // *European Journal of Neuroscience*.-2014.- Vol. 39.- P. 485–500.

115. Lees, P. Pharmacokinetics, pharmacodynamics, toxicology and therapeutics of mavacoxib in the dog: a review / P. Lees, L. Pelligand, J. Elliott, P.-L. Toutain, G. Michels, M. Stegemann // *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*.-2015.-Volume 38.- P. 1–14.
116. Lomas, A. L. The Renal Effects of NSAIDs in Dogs / A. L. Lomas, G. F. Grauer // *Journal of the American Animal Hospital Association*.-2015.- Vol. 51.-№ 3.-P. 197-203.
117. M. C. Hochberg. Osteoarthritis: new approaches / M. C. Hochberg // *Medicographia*.-2013.- Vol. 35.- № 2.- P. 139-141.
118. Mathew, S. T. Efficacy and Safety of COX-2 Inhibitors in the Clinical Management of Arthritis: Mini Review / S. T. Mathew ,G. Devi S, V. V. Prasanth, B. Vinod // *International Scholarly Research Network ISRN Pharmacology*.-2011.- Vol. 2011, Article ID 480291, 4 p.
119. McCarthy, T. C. Arthroscopy / T. C. McCarthy. *Small Animal Surgery Secrets*,2004.-Hanley & Belfus.-P. 54-61.
120. Moreau, M. Effects of feeding a high omega-3 fatty acids diet in dogs with naturally occurring osteoarthritis / M. Moreau, E. Troncy, J. D. Castillo, C. Bédard, D. Gauvin, B. Lussier // *The Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*.-2013.- Vol. 97.- № 5.-P. 830–837.
121. Nganvongpanit, K. Effects of one-time and two-time intra-articular injection of hyaluronic acid sodium salt after joint surgery in dogs / K. Nganvongpanit, B. Boonsri, T. Sripratak, P. Markmee // *Journal of Veterinary Science*.- 2013.-№ 14(2).- P. 227–230.
122. Niebauer, G. W. Antibodies to canine collagen types i and II in dogs with spontaneous cruciate ligament rupture and osteoarthritis / G. W. Niebauer, B. Wolf , R. I. Bashey, C. D. Newton // *Arthritis & Rheumatism*.-1987.-Vol. 30.-№ 3.- P. 319–327.
123. Olsson, S. Degenerative joint disease (osteoarthrosis): A review with special reference to the dog / S. Olsson // *Journal of Small Animal Practice*.-1971.- Vol 12.- № 6. -P. 333–342.

124. Outerbridge, R. The etiology of chondromalacia patellae / R. Outerbridge // *J. Bone Jt Surg.* – 1961. – Vol. 43-B. – P.752-757.
125. Peerbooms, J. C. Platelet-rich plasma in upper limb conditions / J. C. Peerbooms, T. Gosens // *Shoulder & Elbow.*-2011.-Vol. 3.-№ 1.- P. 8–12.
126. Pollmeier, M. Clinical evaluation of firocoxib and carprofen for the treatment of dogs with osteoarthritis / M. Pollmeier, C. Toulemonde, C. Fleishman, P. D. Hanson // *The Veterinary Record.*-2006.- October 21.-P. 547-551.
127. Proot, J. Analysis of lactate concentrations in canine synovial fluid / J. Proot, F. Vicente, D. Sheahan // *Journal: Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology.*- 2015.-№28(5).-№ 301-205.
128. Rappl, L. M. Effect of platelet rich plasma gel in a physiologically relevant platelet concentration on wounds in persons with spinal cord injury / L. M. Rappl // *International Wound Journal.*-2011.-Vol. 8.- № 2.- P. 187–195.
129. Read, R. A. Systemic use of pentosan polysulphate in the treatment of osteoarthritis / R. A. Read, D. Cullis-Hill, M. P. Jones // *Journal of Small Animal Practice.*-1996.-Vol. 37.-№ 3.-P. 108–114.
130. Reymond, N. Robenacoxib vs. carprofen for the treatment of canine osteoarthritis; a randomized, noninferiority clinical trial / N. Reymond, C. Speranza, P. Gruet, W. Seewald, J. N. King // *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics.*-2012.-Vol. 35.-№ 2.- P. 175–183.
131. Smith, G.N. Diacerhein treatment reduces the severity of osteoarthritis in the canine cruciate-deficiency model of osteoarthritis / G.N. Smith, S. L. Myers, K. D. Brandt, E. A. Mickler, M. E. Albrecht // *Arthritis & Rheumatism.*- 1999.- Vol. 42.- № 3.- P.-545–554.
132. Todhunter, R. J . Osteoarthritis / R. J. Todhunter, S. A. Johnston // *Textbook of Small Animal Surgery.*- Elsevier Health Sciences, 2003. P.2208-2236.
133. Tsukuda, Y. Therapeutic effects of intra-articular ultra-purified low endotoxin alginate administration on an experimental canine osteoarthritis model / Y. Tsukuda, T. Onodera, Y. Izumisawa, Y. Kasahara, T. Igarashi, N.

- Ohzawa, M. Todoh, S. Tadano, N. Iwasaki // Journal of Biomedical Materials Research. -2015.-Vol. 103.-№ 11.- P. 3441-3448.
134. Warren, L . The thiobarbituric acid assay of sialic acids / L . Warren // J.Biol. Chem.- 1959.-Vol. 234.-P. 1971-1975.
135. Widmer, W. R. Radiographic and magnetic resonance of the stifle joint in experimental osteoarthritis of dogs / W. R. Widmer, K. A. Buckwalter, E. M. Braunstein, M. A. Hill, B. L. O'Connor, D. M. Visco // Veterinary Radiology & Ultrasound.-1994.-Vol. 35.-№ 5.-P. 371–384.
136. Zubin, E. Regenerative therapy for the management of a large skin wound in a dog / E. Zubin, V. Conti, F. Leonardi, S. Zanichelli, R. Ramoni, S. Grolli / Clinical Case Reports.- 2015.- № 3(7).- P. 598–603.

ПРИЛОЖЕНИЯ

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной работе
 ФГБОУ ВО Саратовский государственный
 аграрный университет им. Н.И.Вавилова
 С.В.Ларионов

« 20 » _____ 2016 г.



Карта обратной связи

о внедрении в учебный процесс результатов научных исследований по теме кандидатской диссертации «КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ОБОГАЩЕННОЙ ТРОМБОЦИТАМИ АУТОПЛАЗМЫ ПРИ АСЕПТИЧЕСКИХ ОСТЕОАРТРОЗАХ СОБАК»

Полученные результаты прошли клинические испытания и имеют практическое и научное значение. Автором проведена значимая работа, посвященная разработке комплексного метода диагностики и лечения животных, больных асептическими остеоартрозами.

Настоящим удостоверяю, что материалы диссертационной работы Пигаревой Ю.В. имеют научную новизну, представляют интерес для учебного процесса и планируются использоваться при чтении лекций и проведении лабораторно-практических занятий на кафедре болезней животных и ВСЭ ФГБОУ ВО Саратовский государственный аграрный университет им.Н.И.Вавилова.

Материалы диссертационной работы рассмотрены и одобрены на заседании кафедры от 26 ноября 2015 г., протокол № 4.

Заведующий кафедрой
 болезней животных и ВСЭ,
 доктор ветеринарных наук, профессор,
 член-корреспондент РАСХН

С.В. Ларионов

Ветеринарная клиника «Пульс»
400001, г. Волгоград, ул. Ким, 7а
тел. (8442) 50-33-78, 8-904-437-07-71

Справка

Дана Пигаревой Юлии Вячеславовне в том, что материалы ее кандидатской диссертации «Клинико-морфологическое обоснование эффективности применения обогащенной тромбоцитами аутоплазмы при асептических остеоартрозах собак» используются в практической деятельности ветеринарными врачами.

Главный ветеринарный врач клиники,
Кандидат ветеринарных наук



Моисеев Е.Н.

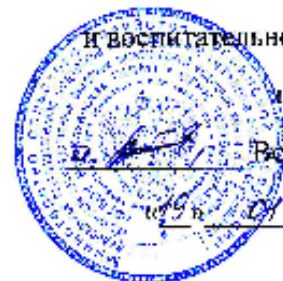
УТВЕРЖДАЮ

проректор по учебной

и воспитательной работе,

профессор

Волков А.Х.



2016 г.

СПРАВКА О ВНЕДРЕНИИ В УЧЕБНЫЙ ПРОЦЕСС

Результаты научных исследований Пигаревой Юлии Вячеславовны по теме кандидатской диссертации: «Клинико-морфологическое обоснование эффективности применения обогащенной тромбоцитами аутоплазмы при ассептических остеоартрозах собак» отдельно и в сочетании используются при чтении лекций и проведении лабораторно - практических занятий на кафедре ветеринарной хирургии ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э.Баумана». Материалы рассмотрены на заседании кафедры (протокол № 8 от 14 января 2016 г).

Заведующая кафедрой
ветеринарной хирургии
д. вет. наук

Ф.В.Шакирова

400007, г. Волгоград,
Краснооктябрьский р-он,
ул. Чистоозерная, 4
тел./факс: (8442) 27-27-47
E-mail: vl-derevyanchenko@yandex.ru
www.vetklinika-animals.ru

СПРАВКА

Дана аспиранту кафедры болезней животных ВСЭ ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет» им. Н.И. Вавилова» Пигаревой Юлии Вячеславовне в том, что результаты ее диссертационной работы «Клинико-морфологическое обоснование эффективности применения обогащенной тромбоцитами аутоплазмы при асептических остеоартрозах собак» используются в клинической практике при диагностике и терапии больных остеоартрозами животных.

Главный ветеринарный
врач клиники, к.в.н.



В. В. Деревянченко



Ветеринарная клиника "УНИВЕР-запад"
121353, г. Москва, Сколковское шоссе, д. 32
телефон: (495) 735-3098
www.vet-univer.ru

СПРАВКА

Дана Пигаревой Юлии Вячеславовне в том, что рекомендуемые ей методы диагностики и терапии асептических остеоартрозов у собак используются в практической деятельности ветеринарными врачами.

Главный ветеринарный врач
Ветеринарной клиники «УНИВЕР-запад»,
кандидат ветеринарных наук



Чермошнцева Г.В.



ВЕТЕРИНАРНАЯ КЛИНИКА

врачей СУМБАЕВЫХ

г. Пенза, ул. Тамбовская, д.9, тел. 89603251619, 8061573137

СПРАВКА

Дана аспиранту кафедры болезней животных и ВСЭ ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова» Пигаревой Юлии Вячеславовне в том, что предлагаемый ею метод терапии больных остеоартрозами животных используется в практике ветеринарными врачами клиники.

Главный ветеринарный врач клиники
кандидат вет. наук



Сумбаева А.И.

УНТЦ «Ветеринарный госпиталь»

410005 , Россия, г. Саратов,
ул. Большая Садовая, д. 220
Телефон: (8452) 323-500
www.vetghospital.ru

СПРАВКА

Дана аспиранту Пигаревой Юлии Вячеславовне в том, что результаты ее кандидатской диссертации «Клинико-морфологическое обоснование эффективности применения обогащенной тромбоцитами аутоплазмы при асептических остеоартрозах собак» используются при лечении больных остеоартрозами животных.

Директор УНТЦ «Ветеринарный госпиталь»
д.в.н., профессор



A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Rykhlov'.

Рыхлов А.С.

