

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

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук**

Саратов – 2016

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова».

Научный руководитель: **Анников Вячеслав Васильевич**
доктор ветеринарных наук, профессор

Официальные оппоненты: **Ягников Сергей Александрович**
профессор, доктор ветеринарных наук,
профессор кафедры клинической ветеринарии
ФГОАУ ВО «Российский университет
дружбы народов»

Краснов Виталий Викторович
доктор биологических наук,
ведущий научный сотрудник научной
клинико-экспериментальной лаборатории
патологии осевого скелета и нейрохирургии
ФГБУ «Российский научный центр
«Восстановительная травматология и ортопедия»
им. ак. Г.А. Иллизарова» Минздрава России

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»

Защита состоится «27» мая 2016 года в 9.00 часов на заседании диссертационного совета Д 220.061.01 при ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет» им. Н.И. Вавилова по адресу: 410005, г. Саратов, ул. Соколова, 335, диссертационный зал.

Отзывы просим высылать по адресу: ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет» им. Н.И. Вавилова, 410012, г. Саратов, Театральная площадь, д. 1, ученому секретарю диссертационного совета Д 220.061.01; e-mail:vetdust@mail.ru.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Саратовский ГАУ им. Н.И. Вавилова» и на сайте www.sgau.ru.

Автореферат разослан « » _____ 2016 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

А.В. Егунова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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. Он служит основной причиной функциональной недееспособности и инвалидности у людей.

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.

К основным этиологическим факторам заболевания относят нарушение биомеханики сустава в результате травм, генетические заболевания, метаболические и эндокринные расстройства, функциональную перегрузку суставов, возраст

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. 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.

Различные хондропротекторы, широко представленные на ветеринарном рынке, имеют слабовыраженный репаративный эффект. 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. В ветеринарной и гуманитарной медицине продолжается поиск оптимального консервативного метода лечения при остеоартрозах, который будет обладать высокими хондрорепаративными потенциями и отсутствием побочных эффектов. 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. 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.

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

Теоретической базой для исследования послужили работы Давыдова В.Б., Коваленко В.Н., Матвеевой Е.Л., Слесаренко Н.А., Стекольников А.А., Ягникова С.А., Ахмерова Р.Р. и других ученых.

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. Саратове;
- разработать оптимальную методику приготовления обогащенной тромбоцитами аутоплазмы;
- с учетом клинических, рентгенологических и ультразвуковых 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.

Объект исследования

Обогащенная тромбоцитами аутоплазма.

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, ультразвуковых, 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 хондротективное 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 ультразвуковые 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 ультразвуковое 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 провоцирует местнораздражающие и сенсибилизирующие эффекты.

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, ультразвуковой, 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, ультразвуковых, 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).

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. Общий объем публикаций составляет 2,81 п.л., из которых 1,4 п.л. принадлежат лично автору.

Объем и структура диссертации

Диссертация состоит из введения, шести глав, заключения, рекомендаций производству, списка цитируемой литературы и 9 приложений; изложена на 142 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 25 рисунками, 8 таблицами, 2 диаграммами. Список литературы включает 136 источников, из них отечественных - 96, зарубежных - 40.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **введении** рассматривается актуальность темы исследования, определена степень разработанности проблемы, сформулированы цель и задачи исследования.

В **первой главе** представлена информация об этиопатогенезе остеоартроза, методах диагностики и терапии данного заболевания. Рассмотрены методики получения обогащенной тромбоцитами аутоплазмы, а также теоретические и практические предпосылки к включению обогащенной тромбоцитами аутоплазмы в ветеринарную артрологию.

Во **второй главе** представлены методология, материалы и методы исследований.

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.

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 «Bayet AG», Германия) внутривенно в дозе в дозе 0,05 мл/кг массы тела согласно официально утвержденной инструкции.

Гематологические и биохимические исследования крови, ультразвукографические, 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 окончании.

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

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. 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. Для исключения патологий центральной и периферической нервной системы проводили неврологическое обследование (Ягников С.А., 2006).

Гематологические исследования выполняли на полуавтоматическом гематологическом анализаторе Mindray BC-2300, подсчет лейкограммы - по общепринятой методике (Винников Н.Т., 2006). Биохимическое исследование сыворотки крови выполняли на биохимическом анализаторе Sinnova BS-3000P, синовиальной жидкости - на спектрофотометре «Экрос» ПЭ 5300ВИ и биохимическом анализаторе Stat Fax® 1904 Plus.

Для проведения цитологического исследования мазок синовиальной жидкости окрашивали набором реактивов «Лейкодив 200», и просматривали под иммерсионной системой биологического микроскопа Unico при увеличении 1500 раз.

Рентгенографическое исследование выполняли на цифровом рентгеновском аппарате «Вател-1». Эндоскопическое исследование у больных животных проводилось на оборудовании фирмы Karl Storz артроскопом диаметром 2,7 мм.

Ультрасонографические исследования проводили на аппарате Esaote MyLab 20 Plus в В-режиме. При этом использовали линейный и микроконвексный датчики с частотой выше 10 МГц.

Иммунохроматографическое исследование выполняли методом экспресс-диагностики при помощи тест-систем фирмы VetExpert (ООО «ВетЭксперт»).

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).

В **третьей главе** представлены результаты собственных исследований.

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 у собак поражался коленный сустав – 57 % от общего числа животных с остеоартрозом (Диаграмма 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).

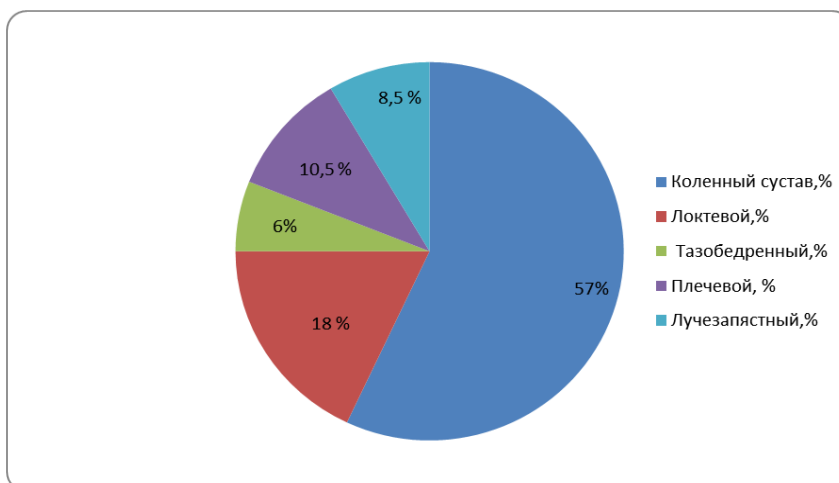


Диаграмма 1 – Манифестация остеоартрозов у собак.

В ходе анализа первичной документации (журнал первичного приема и собственных исследований) установлена определенная породная предрасположенность (Диаграмма 2). При этом отмечено, что более других подвержены заболеванию собаки породы лабрадор (20%), а также беспородные собаки (16%).

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

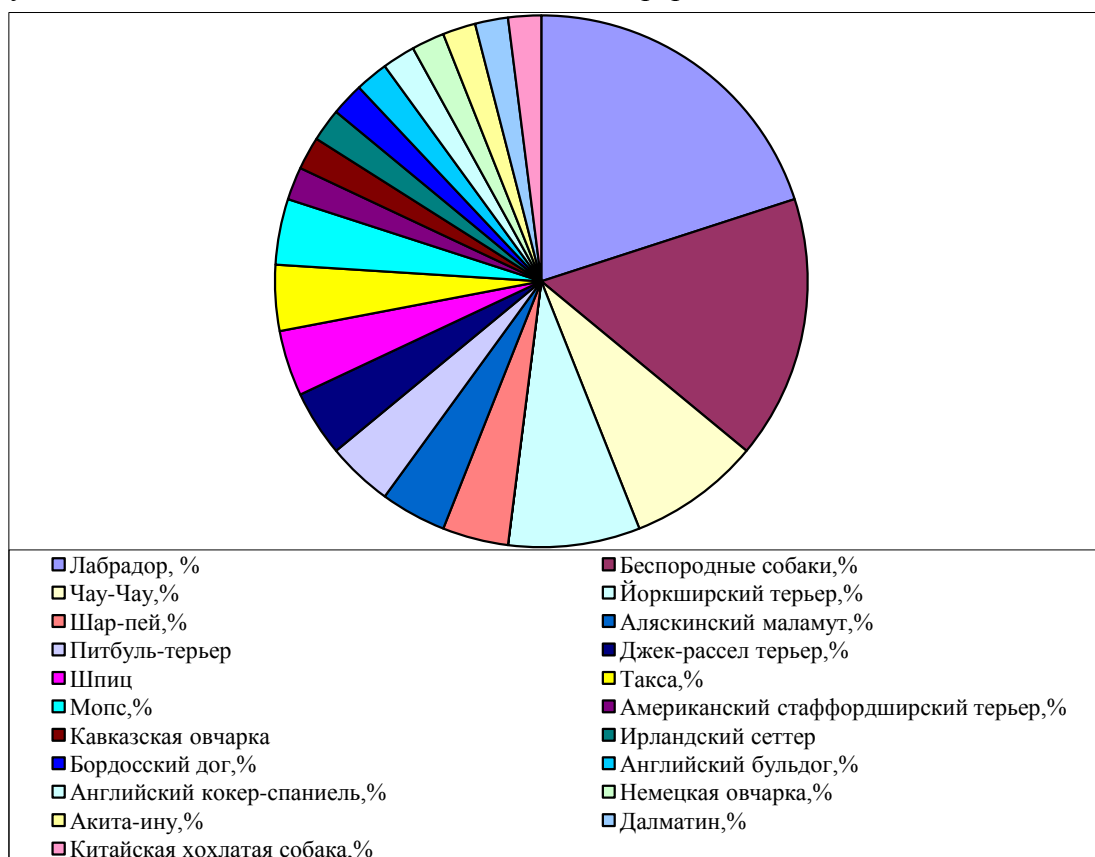


Диаграмма 2 – Породная предрасположенность к остеоартрозам у собак.

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.

Динамика клинико-гематологических изменений

При первичном осмотре клинически больных животных с остеоартрозом регистрировали нарушение стато-локомоторного акта. Отмечалась хромота висячего или опирающего типа разной степени выраженности. 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.

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.

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. 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 стато-локомоторного 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.

При проведении гематологических исследований никаких значимых отклонений в концентрациях эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов, а также прочих показателей нами обнаружено не было. Это еще раз подтверждает информацию о том, что остеоартроз не является системным заболеванием, а также свидетельствует о том, что терапия животных с остеоартрозами обогащенной тромбоцитами аутоплазмой не оказывает угнетающего воздействия на эритро-, лейко- и тромбопоэз.

Динамический рентгеномониторинг терапии

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 1 А). У животных с третьей стадией остеоартроза коленного сустава регистрировались значительные остеофиты, деформации суставных поверхностей (Рисунок 2 А). При четвертой степени остеоартроза изменения более выражены, отмечали крупные остеофиты, сильные субхондральный остеосклероз и деформации эпифизов костей.

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.

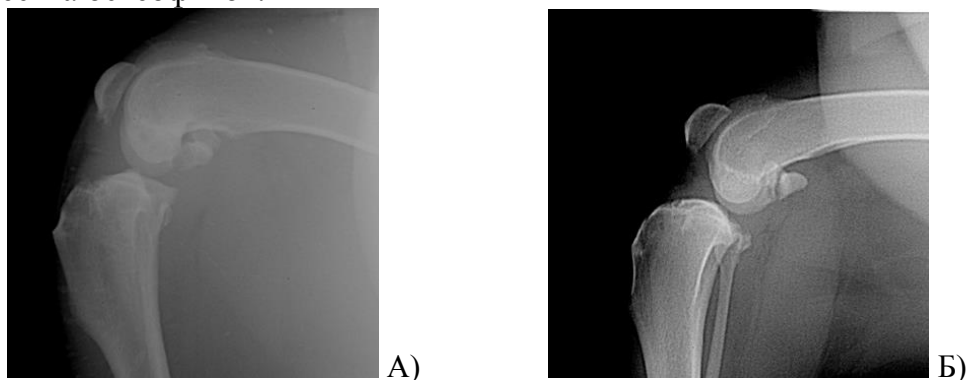


Рисунок 1 А – Остеоартроз коленного сустава 2 стадии, рентгенограмма до начала терапии, боковая проекция. Животное опытной группы. Очаги склерозирования субхондральной кости, единичные остеофиты. Б) – После окончания курса терапии - выравнивание суставной поверхности. Уменьшение степени склерозирования субхондральной кости. Уменьшение размеров остеофитов.

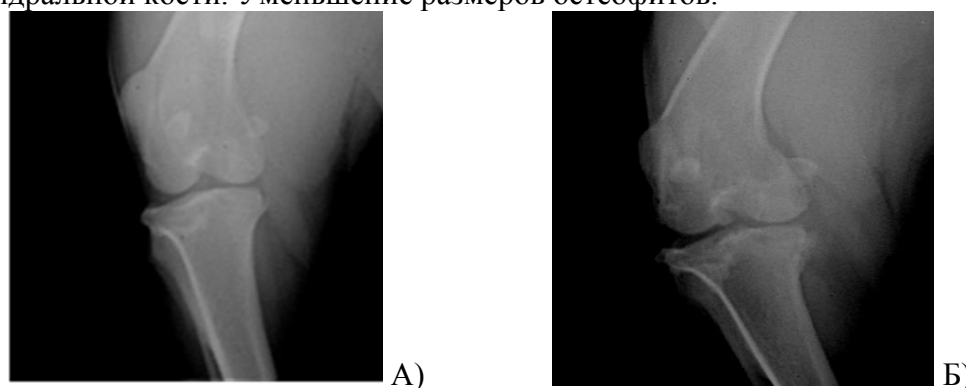


Рисунок 2 А – Остеоартроз коленного сустава 3 стадии, рентгенограмма до начала терапии, прямая проекция. Животное контрольной группы. Множественные остеофиты. Неравномерное сужение суставной щели. Б – рентгенограмма после окончания курса терапии. Множественные остеофиты, усиление субхондрального склероза. Неравномерное сужение суставной щели.

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.

Динамика биохимических показателей сыворотки крови при лечении больных асептическими остеоартрозами животных

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, аспаратаминотрансфераза, щелочная фосфатаза), холестерина, общего белка и его фракций (альбумин, С-реактивный белок), глюкозы, показатели работы почек (креатинин, мочевина), мочевую кислоту и ревматоидный фактор.

В результате проведенных исследований установлено, уровень аланинаминотрансферазы и аспаратаминотрансферазы у животных опытных групп до начала терапии оставался в рамках референсных величин. У контрольных групп

животных концентрация данных ферментов также не превышала референсных значений. 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 $43,7 \pm 6,03$ u/l до $42,8 \pm 5,1$ u/l, со второй стадией с $51,1 \pm 6,23$ u/l до $49,6 \pm 7,3$ u/l. У опытных животных с третьей и четвертой стадиями остеоартроза уровень АЛТ незначительно повысился (от $47,5 \pm 6,33$ u/l до $50,5 \pm 3,9$ u/l и от $48,4 \pm 5,62$ u/l до $53,1 \pm 4,8$ u/l соответственно). К концу курса терапии уровень АЛТ у животных контрольных групп с первой, второй и четвертой стадиями немного увеличился, 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 исследуемых животных понижался или повышался, тем не менее оставаясь в референсных рамках. Все это свидетельствует об отсутствии какого-либо гепатотоксичного эффекта при терапии плазмой, обогащенной тромбоцитами.

Концентрация холестерина в сыворотке крови на всем протяжении исследования хоть и имела незначительную динамику, но за пределы референсных величин не выходила.

В начале курса лечения уровень щелочной фосфатазы у животных опытной группы с первой стадией остеоартроза составил $49,9 \pm 8,27$ u/l, со второй - $67,0 \pm 4,90$ u/l, с третьей - $69,6 \pm 5,34$ u/l, с четвертой - $70,7 \pm 5,12$ u/l. Показатели контрольных групп животных до начала терапии составили $57,9 \pm 7,35$ u/l, $63,6 \pm 4,35$ u/l, $47,2 \pm 6,29$ u/l и $68,8 \pm 5,13$ u/l 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 аутоплазмы отмечено снижение концентрации щелочной фосфатазы в сыворотке крови. Таким образом, уровень фермента у животных с первой стадией остеоартроза составил $44,8 \pm 2,16$ u/l, со второй - $58,6 \pm 2,94$ u/l, с третьей - $59,6 \pm 3,14$ u/l, с четвертой - $55,4 \pm 6,34$ u/l. На момент окончания курса лечения уровень щелочной фосфатазы у животных контрольной группы с первой стадией остеоартроза незначительно снизился до $49,1 \pm 3,51$ u/l. У животных с остальными стадиями концентрация фермента несколько повысилась относительно базового уровня.

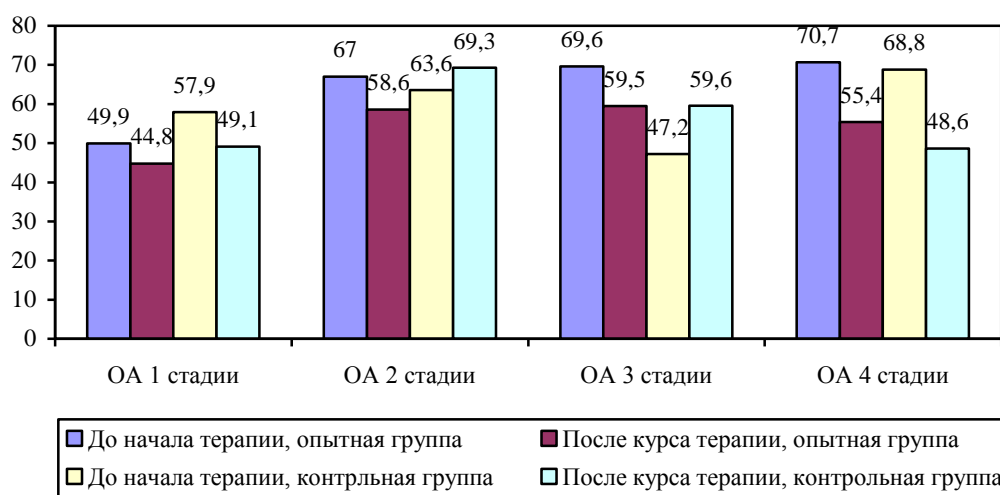


Диаграмма 3 – Динамика концентрации щелочной фосфатазы в сыворотке крови при терапии больных остеоартрозами животных.

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 предполагать наличие у обогащенной тромбоцитами аутоплазмы остеорепаративных свойств.

Уровень билирубина на всем протяжении исследования у животных опытных групп находился в референсных интервалах, что свидетельствует о нормальной дезинтоксикационной функции печени в процессе терапии обогащенной тромбоцитами аутоплазмой.

Основные показатели работы почек, такие как креатинин и мочевина на всем протяжении исследования претерпевали различные изменения, но не выходили за рамки референсных величин. Концентрация креатинина у животных опытных групп до начала терапии колебалась 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).

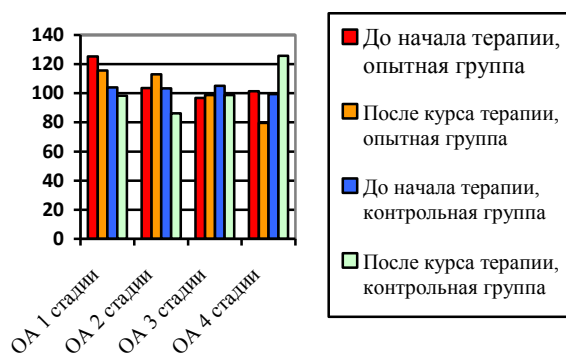


Диаграмма 4 – Динамика концентрации креатинина в сыворотке крови при терапии больных остеоартрозами животных.

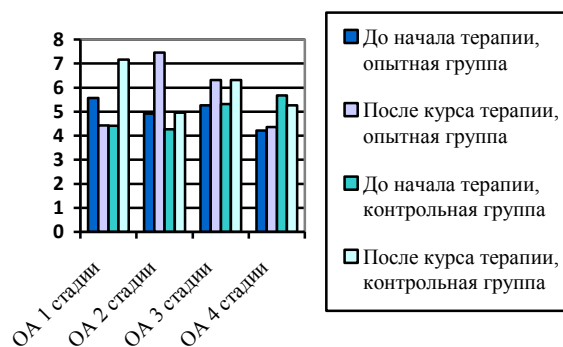


Диаграмма 5 – Концентрация мочевины в сыворотке крови животных опытных и контрольных групп при терапии больных остеоартрозами.

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.

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.

На начальных стадиях остеоартрозного процесса у животных опытных и контрольных групп следов С-реактивного белка не отмечено, в то время как на четвертой стадии наблюдалось 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.

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

До начала терапии у животных всех групп мы отмечали закономерное снижение концентрации уоновых кислот (Таблица 1, Таблица 2), что является характерной чертой остеоартрозного процесса. Наиболее сильные отклонения от референсных величин наблюдалось 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 стадий (Таблица 1, Таблица 2). 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 2). Повышение сульфатно-уронового коэффициента говорит о нарастании количества сульфатированных глюкозаминогликанов (ГАГ) и снижении концентрации гиалуроната, определяющего основные вязко-упругие свойства синовиальной жидкости. 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 2). 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, следствием чего является гипергидратация хряща, приводящая к набуханию и размягчению его коллагенового каркаса.

Таблица 1. Биохимические параметры 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
Уроновые кислоты, мМоль/л	15,6±0,4	14,56±1,9	15,2±0,8	12,93±1,8 7	14,1±0,49*	10,91±1,09	11,8±1,03*	7,5±3,9	8,2±2,74
Сульфаты мМоль/л	15,74±0,35	16,6±0,4	16,21±0,53	17,1±0,9	15,98±0,44	18,3±0,2	16,73±0,98	25,4±1,3	20,8±0,9**
Сульфаты/Уроновые кислоты	1,07±0,04	1,14±0,21	1,06±0,66	1,32±0,48	1,13±0,89**	1,67±0,18	1,41±0,95* *	3,3±0,33	2,53±0,32** *
Общий белок, г/л	10,9±2,1	30,1±8,9	28,3±4,7	45,7±5,5	34,8±6,2**	50,1±5,3	44,7±6,9*	57,3±8,8	53,4±5,7*
Сиаловые кислоты, мМоль/л	0,59±0,04	0,97±0,02	0,73±0,04 *	1,3±0,6	0,9±0,4***	1,45±0,23	1,23±0,37* **	1,6±0,7	1,09±0,56** *
Глюкоза, мМоль/л	2,3±0,3	2,2±0,7	2,3±0,8	2,0±0,6	2,1±0,8*	2,1±0,9	2,2±0,5	1,6±0,3	1,9±0,8

Таблица 2. Биохимические параметры синовиальной жидкости при терапии животных контрольных групп с остеоартрозами (n=60,* p≤0,05, ** p ≤ 0,01)

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±0,4	13,98±1,5	14,8±0,7*	12,51±1,6	12,3±1,4	10,53±1,9	9,8±1,5*	8,2±2,5	7,9±1,9
Сульфаты, мМоль/л	15,74±0,35	15,9 ±0,8	15,3±0,7	17,8 ±0,5	16,9±0,4	19,1±0,5	20,3±0,8	22,1±1,5	23,8±2,5
Сульфаты/Уроновые кислоты	1,07±0,04	1,13±0,5	1,03±1,0	1,42±0,3	1,37±0,28	1,81±0,26	2,07±0,53*	2,6±0,6	3,0±1,31*
Общий белок, г/л	10,9±2,1	28,9±2,1	25,7±3,1	39,6±6,3	40,4±5,3	53,6±4,5	60,7±6,9	59,5±7,1	65,8±7,5*
Сиаловые кислоты, мМоль/л	0,59±0,04	0,8±0,2	0,6±0,5	1,2±0,9	1,3±0,8	1,5±0,5	1,7±0,9	1,8±0,6	2,1±1,3
Глюкоза, мМоль/л	2,3±0,3	2,1±0,3	2,2±0,5	1,9±0,5	2,1±0,8	2,1±0,3	1,8±0,4*	1,5±0,6	1,3±0,9

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. Прослеживается четкая взаимосвязь между концентрацией данного показателя и стадийностью процесса. 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 1 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 признак воспалительного процесса в тканях. Так, у животных опытной группы второй 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 отмечалась и в группах контроля. 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 1) 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 2). 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».

Известно, что с усилением стадии процесса происходит уменьшение концентрации глюкозы в синовиальной жидкости. 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.

Цитологическая характеристика синовиальной жидкости при лечении больных остеоартрозами животных

Морфологический состав синовиальной жидкости у интактных животных был представлен незначительным количеством нейтрофилов ($5,33\pm 0,34\%$), лимфоцитов ($56,07\pm 6,9\%$), синовиоцитов ($23,27\pm 5,85\%$), недифференцированными клетками ($2,25\pm 0,45\%$), моноцитами ($4,2\pm 0,75\%$) и макрофагами ($10,25\pm 2,33\%$). Рагоциты и эритроциты отсутствовали (Рисунок 3 А,Б).

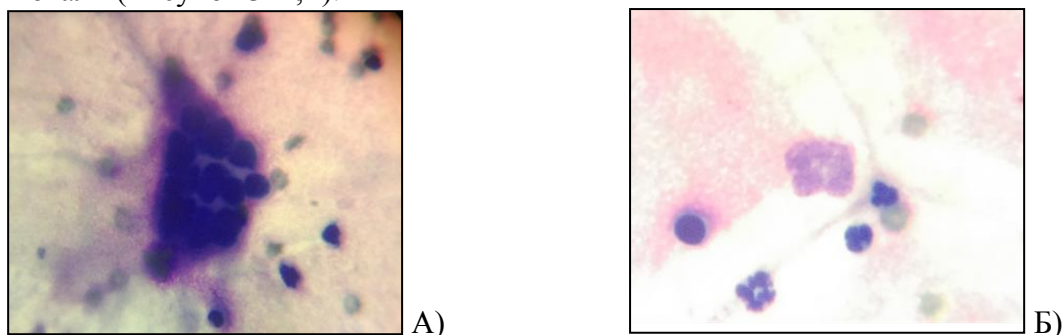


Рисунок 3 – Синовиоцитогамма интактного сустава. А – Скопление синовиоцитов. Б – Сегментоядерные нейтрофилы, лимфоцит, недифференцированная клетка.

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 составил $0,95\pm 0,89\times 10^6$ и $0,91\pm 0,38\times 10^6$ соответственно. Проведение курса терапии обогащенной тромбоцитами аутоплазмой способствовало уменьшению цитоза у всех животных опытных групп. 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.

О нарастании воспалительной реакции в суставе говорит увеличение процентного содержания нейтрофилов. В нашем исследовании до начала терапии у собак с первой стадией остеоартрозного поражения сустава в синовиоцитогамме увеличилось количество нейтрофилов (до $13,33\pm 1,09\%$ в опытной группе, до $8,73\pm 3,53\%$ в контрольной). По мере усиления стадии поражения суставов процентное содержание нейтрофилов продолжало расти, достигнув значений в $21,14\pm 1,72\%$ и $20,61\pm 4,97\%$ в опытной и контрольной группе животных при четвертой стадии остеоартроза.

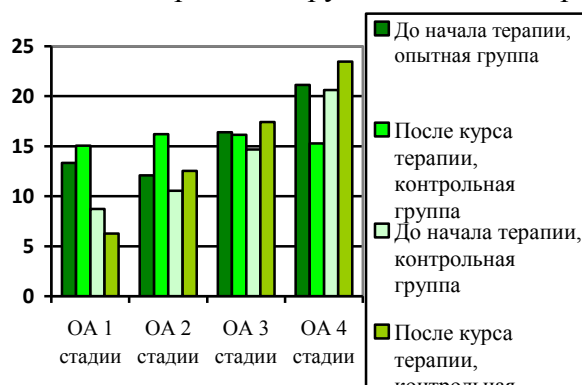


Диаграмма 6 – Процентное содержание нейтрофилов в синовиальной жидкости исследуемых животных в процессе терапии.

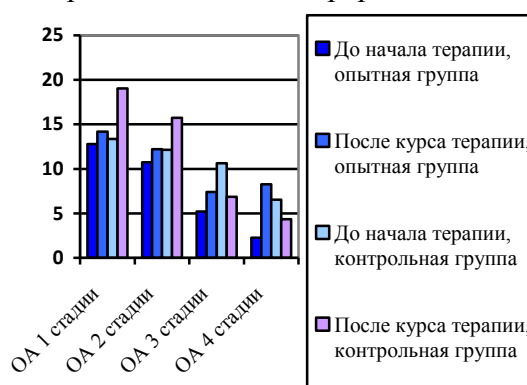


Диаграмма 7 – Количество синовиоцитов синовиальной жидкости животных опытных и контрольных групп в процессе терапии.

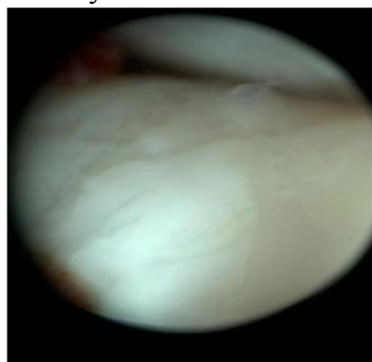
Курс интраартикулярных введений обогащенной тромбоцитами аутоплазмы у животных опытной группы с третьей стадией остеоартроза не оказал никакого влияния на концентрацию нейтрофилов в синовиальной жидкости. У животных с первой стадией процесса их количество увеличилось на 1,74 %, у животных со второй стадией – 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 окончании 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. Количество синовиоцитов - клеток покровного слоя синовиальной оболочки - у интактных животных составило $23,27 \pm 5,85$ %. В нашем исследовании до начала терапии отмечено снижение концентрации данных клеток при возрастании стадии остеоартроза.

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.

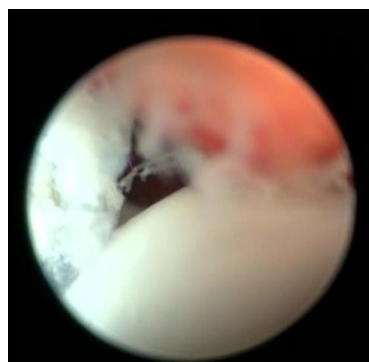
Внутрисуставные изменения в процессе лечения животных, больных асептическими остеоартрозами

У животных обеих групп до начала терапии при исследовании были обнаружены следующие внутрисуставные изменения: эрозии и дефекты хряща разной степени выраженности (Рисунок 4 А,Б), хондромалиция I-IV степеней (вплоть до обнажения субхондральной кости) (Рисунок 5 А), локальный синовит, гиперплазированные синовиальные ворсины (Рисунок 4 Б), нити фибрина в полости сустава (Рисунок 4 Б). Полученные данные являются специфичными для остеоартрозного процесса, что согласуется с литературными источниками.

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 5 Б), уменьшением или полным исчезновением остеофитов и нитей фибрина отсутствием синовита.



А)



Б)

Рисунок 4 А – Остеоартроз коленного сустава 3 стадии до начала терапии. Животное опытной группы. Множественные узурации суставной поверхности хряща мыщелка бедренной кости с разволокнением. Хондромалиция 3 степени. Б –

Эндоскопическая картина после курса терапии. Сглаживание контуров суставного хряща мыщелка бедренной кости. Незначительно количество фибрина в полости сустава.

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.

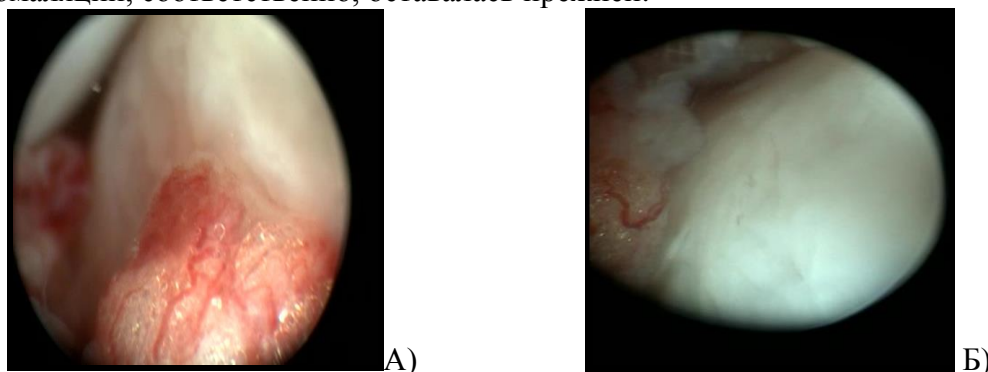


Рисунок 5 А – Остеоартроз коленного сустава 4 стадии до начала терапии. Животное контрольной группы. Обширная эрозия поверхности хряща, гиперплазия и васкуляризация синовиальных ворсин. Б - эндоскопическая картина после курса терапии. Эрозия хряща, отсутствие сглаживания суставной поверхности. Незначительное снижение васкуляризации синовиальных ворсин.

Ультрасонографическая характеристика остеоартрозного процесса у животных до и после лечения

До начала терапии у животных обеих групп с первой стадией остеоартроза отмечали незначительные изменения в виде утраты четкости контуров поверхностной зоны хряща. У животных со второй и третьей стадиями остеоартроза наблюдали локальное утолщение и диффузное повышение эхогенности суставного хряща, отсутствие однородности, повышение звукопроводимости субхондральной кости (Рисунок 6 А, Рисунок 7 Б). Четвертая стадия остеоартроза помимо изменений контуров хряща характеризовалась наличием очагов деструкции хряща, утолщением капсулы сустава и синовиальной оболочки, свободными внутрисуставными телами. Повреждения связок, сухожилий и менисков в процессе исследования выявлено не было. Капсула суставов визуализировалась в виде гипоехогенной утолщенной линии. Полость суставов была заполнена незначительным количеством анэхогенного содержимого. 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 7 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. 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 эхогенности.

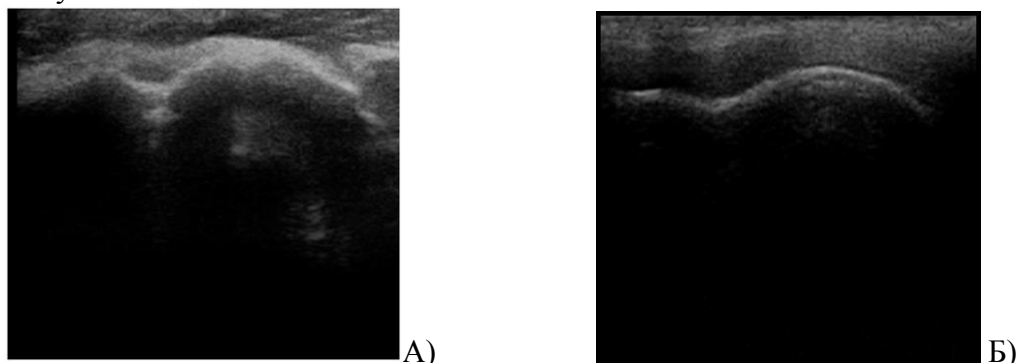


Рисунок 6 А – Остеоартроз коленного сустава 3 стадии, до начала терапии. Животное опытной группы. Зона мыщелков бедренной кости. Диффузный субхондральный склероз, утрата четкости контуров поверхностной зоны хряща. Б – Ультрасонограмма после курса терапии. Выравнивание контуров суставного хряща, улучшение звукопроводимости субхондральной кости.

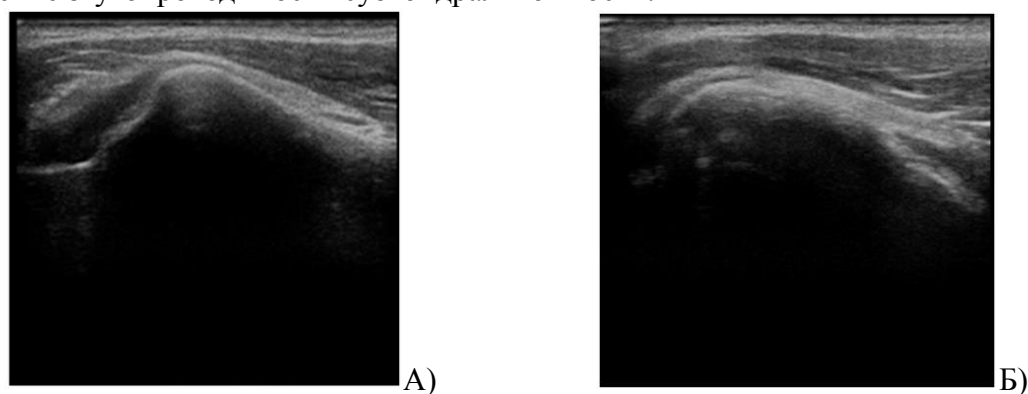


Рисунок 7 А – Остеоартроз коленного сустава 3 стадии, до начала терапии. Животное контрольной группы. Выбухание субхондральной пластинки, анэхогенный очаг в толщине хряща. Б – Ультрасонограмма после окончания курса терапии. Нарушение однородности суставного хряща, очаги деструкции зоны кальцифицированный хрящ-кость. Субхондральный склероз, кистозное перерождение субхондральной кости.

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 7 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.

В **четвертой главе** описана клиническая апробация технологии хондрорепарации.

В **пятой главе** рассматриваются выявленные в ходе работы ошибки и осложнения.

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 и средних 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 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 дегенеративно-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 хондромалации 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 8).

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Проведенные исследования позволили выявить терапевтическую эффективность интраартикулярных инъекций обогащенной тромбоцитами аутоплазмы при остеоартрозах различных суставов у собак, что является важным шагом в развитии ветеринарной травматологии и ортопедии. Это создает предпосылки для дальнейшего изучения возможностей широкого применения данной методики лечения в других областях ветеринарной медицины.

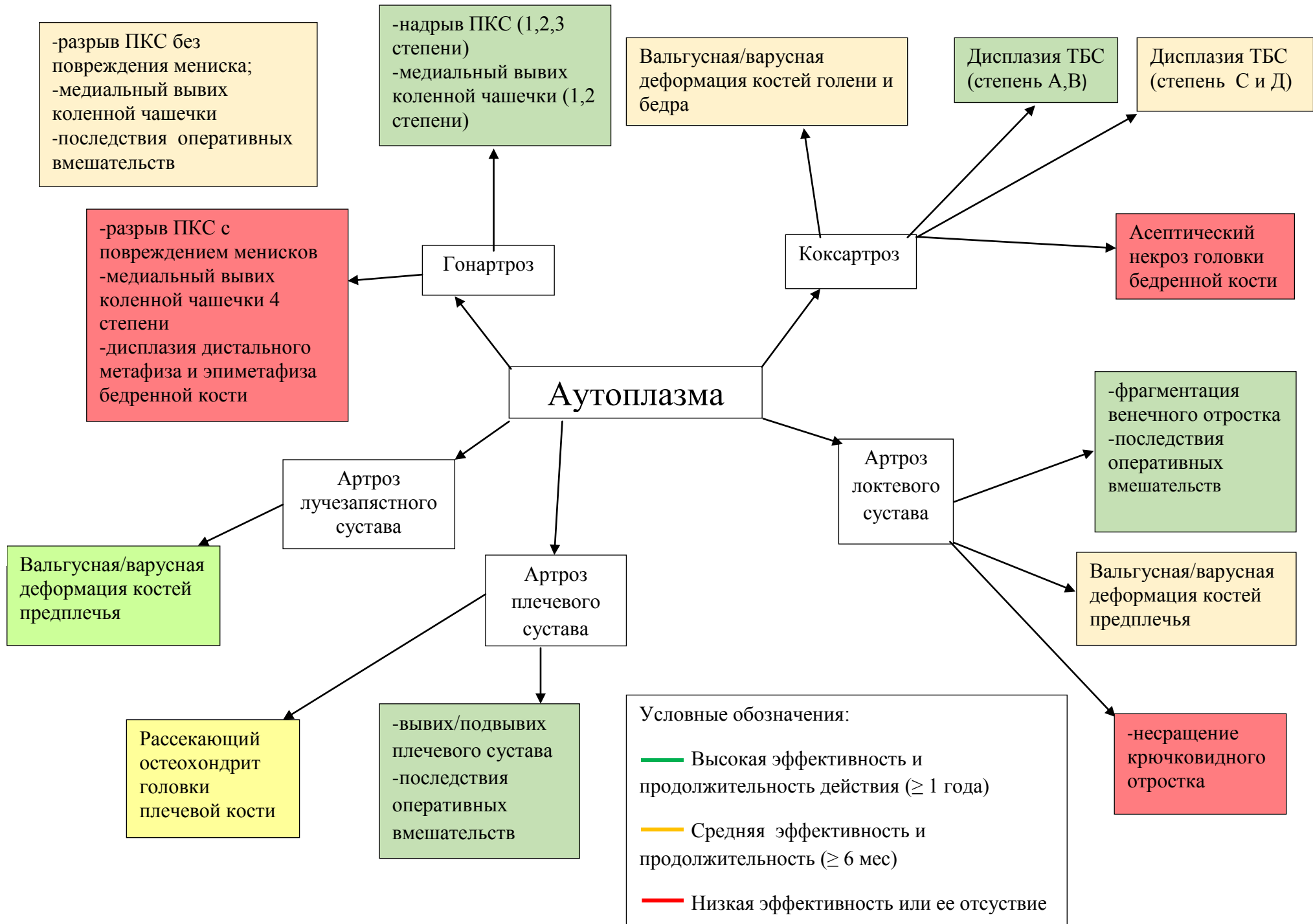


Рисунок - 8 – Показания к применению аутоплазмы.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

в изданиях, рекомендованных ВАК РФ

1. Пигарева, Ю.В. Оценка эффективности PRP-технологии лечения животных с асептическими остеоартрозами / Анников В.В., Пигарева Ю.В., Рыхлов А.С., Анникова Л.В. // Аграрный научный журнал. 2013. - №3. - С.3-6.

2. Пигарева, Ю.В. Биохимический состав синовиальной жидкости в норме и при остеоартрозах / Анников В.В., Пигарева Ю.В. // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. - 2015. - № 4. - С.136-140.

в прочих изданиях

3. Пигарева, Ю.В. Предварительные результаты сравнения эффективности некоторых методов получения плазмы, обогащенной тромбоцитами / Пигарева Ю.В., Широбокова Д.А. // Молодые ученые в решении актуальных проблем науки: Материалы международной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов: Сб. науч. тр. - Троицк: УГАВМ. - 2013. - С. 118-122.

4. Пигарева, Ю.В. Оценка терапевтической эффективности PRP-метода лечения животных с асептическими остеоартрозами / Пигарева Ю.В., Анников В.В., Клюкин С.Д. / Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны: материалы международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых. - 2014. - С. 74-76.

5. Пигарева, Ю.В. Морфология синовиальной жидкости и артроскопические изменения при терапии собак с асептическим остеоартрозом / Анников В.В., Рыхлов А.С., Пигарева Ю.В., Лапина Е.О., Ченцов К.А. // Современные проблемы ветеринарной онкологии и иммунологии: Материалы Международной научно-практической конференции. Саратов: ИЦ «Наука», 2014. - С.23-30.

6. Пигарева Ю.В. Цитокиновая технология лечения животных с асептическими остеоартрозами / Пигарева Ю.В., Анников В.В. // Математические методы в технике и технологиях - ММТТ. - 2014. - № 11 (70). - С. 12-14.

7. Пигарева, Ю.В. Клинико-биохимические изменения в крови животных на фоне терапии остеоартрозов обогащенной тромбоцитами аутоплазмой / Анников В.В., Пигарева Ю.В., Клюкин С.Д. // Современные концепции научных исследований: сборник материалов IX международной научно-практической конференции. - 2014. - №9. - С.130-133.

8. Пигарева, Ю.В. Исследование биохимических параметров синовиальной жидкости у собак с остеоартрозом / Анников В.В., Пигарева Ю.В. // Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны: материалы международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых. - 2015. - С. 22-24.

9. Пигарева, Ю.В. К вопросу о терапевтической эффективности аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами при остеоартрозе коленного сустава / Пигарева Ю.В., Анников В.В., Клюкин С.Д. // Сборник материалов II Международного Ветеринарного конгресса Vetstanbul Group. - 2015. - С. 331-332.

10. Пигарева, Ю.В. PRP-технология лечения животных с асептическими артрозами / Клюкин С.Д., Пигарева Ю.В., Анников В.В. // Молодые ученые Саратовского государственного аграрного университета имени Н.И.Вавилова – агропромышленному комплексу России: сборник научных работ. - ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ». – Саратов, 2015. - С.140-148.

11. 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. - Оpubл. 20.10.2015. Бюл. № 29. - 1 с.