

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ВОЛГОГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Демкин Сергей Анатольевич

**АУТОЛОГИЧНАЯ ОБОГАЩЕННАЯ ТРОМБОЦИТАМИ ПЛАЗМА
В ЛЕЧЕНИИ ПАЦИЕНТОВ С ОСТЕОАРТРОЗОМ КОЛЕННОГО
СУСТАВА (КЛИНИКО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

14.01.15 – травматология и ортопедия

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
профессор Д. А. Маланин

Волгоград, 2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	13
1.1. Современные представления о патогенезе остеоартроза коленного сустава.....	13
1.2. Роль матриксных металлопротеиназ в патогенезе остеоартроза коленного сустава.....	18
1.3. Роль экзогенной гиалуроновой кислоты в течении остеоартроза коленного сустава.....	21
1.4. Аутологичная обогащенная тромбоцитами плазма в лечении пациентов с остеоартрозом коленного сустава.....	30
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	46
2.1. Общая характеристика экспериментальных групп животных.....	46
2.2. Методы исследования животных в эксперименте.....	49
2.3. Общая характеристика клинических групп пациентов с остеоартрозом коленного сустава I-II стадии.....	51
2.4. Общая характеристика клинических групп пациентов с остеоартрозом коленного сустава III-IV стадии	55
2.5. Методы обследования пациентов.....	58
2.6. Методы статистического анализа и доказательной медицины.....	63
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ.....	67
3.1. Сравнительная характеристика лечения животных в экспериментальных группах.....	67
3.2. Обоснование применения нового способа лечения пациентов с остеоартрозом коленного сустава.....	77
Глава 4. РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	81
4.1. Результаты обследования и лечения пациентов с остеоартрозом коленного сустава I-II стадии.....	81

4.2. Результаты обследования и лечения пациентов с остеоартрозом коленного сустава III-IV стадии.....	100
4.3. Оценка эффективности лечения пациентов с остеоартрозом коленного сустава I-II и III-IV стадии с позиции доказательной медицины.....	122
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	125
ВЫВОДЫ.....	138
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	140
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ.....	141
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	142
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	172
ПРИЛОЖЕНИЕ 1. ИНФОРМАЦИОННЫЙ ЛИСТОК ПАЦИЕНТА.....	173
ПРИЛОЖЕНИЕ 2. ИНФОРМИРОВАННОЕ СОГЛАСИЕ НА УЧАСТИЕ В КЛИНИЧЕСКОМ ИССЛЕДОВАНИИ.....	177
ПРИЛОЖЕНИЕ 3. КАРТА ОБСЛЕДОВАНИЯ ПАЦИЕНТА С ОСТЕОАРТРОЗОМ КОЛЕННОГО СУСТАВА.....	179

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

В конце XX – начале XXI века сложилась устойчивая тенденция роста заболеваемости и распространенности болезней опорно-двигательной системы как во всем мире, так и в России (Насонова Е.Л. 2009; Огарков О.Б. 2010; Петрунько И.Л. 2011; Отставнов С.С. 2013; Макарова М.В. с соавт. 2015) . По данным Минздрава России, за период с 2008 по 2013 год рост заболеваемости составил 6,5 %, а за 2014 год – 8,5 %, что во многом обусловлено как общим снижением здоровья населения, так и изменением структуры возрастных групп, в частности старением населения (Петрунько И.Л. с соавт. 2010, 2011; Отставнов с соавт. 2013; Щербакова Е.М. с соавт. 2016).

Остеоартроз (ОА) составляет самую значительную часть (60–70 %) всех заболеваний опорно-двигательной системы, занимающих одно из ведущих мест в структуре первичной и общей заболеваемости населения России (Балабанова Р.М. 2013). Показатели временной и стойкой утраты трудоспособности при ОА оказались сопоставимыми с таковыми при сердечно-сосудистой патологии и выше, чем при любых других заболеваниях (Щербакова Е.М. 2016). Из года в год в России на высоком уровне остается количество пациентов, нуждающихся в эндопротезировании крупных суставов, составляющее около 300000 операций в год. При этом финансовые затраты, приходящиеся на одного пациента, составляют более 178 000 рублей в год. (Петрунько И.Л. с соавт., 2011; Отставнов С.С. с соавт. 2013; Черный А.Ж. с соавт. 2015). Таким образом, распространенность и проблемы лечения ОА имеют важное социально-экономическое значение.

Согласно данным эпидемиологических исследований, самой частой локализацией патологического процесса при деструктивно-дистрофических заболеваниях опорно-двигательной системы является коленный сустав (Светлова М.С. 2011; Зоткин Е.Г. с соавт. 2012; Балабанова Р.М. 2013; Hunter D. et. al 2007). В клинической практике врачей травматологов-ортопедов существующие в настоящее время методы лечения пациентов с гонартрозом зачастую не приводят к желаемым результатам. На высоком уровне остаются показатели временной и

стойкой утраты трудоспособности. По данным Чёрного А.Ж. с соавт. (2015) с 2009 по 2015 гг. значительно возросло и количество проводимых в России операций эндопротезирования коленного сустава.

Основной целью современных подходов к лечению гонартроза является уменьшение болевого синдрома, улучшение функции сустава и качества жизни пациентов с помощью фармакологических и нефармакологических консервативных методик, ряда инвазивных манипуляций и хирургических вмешательств. Существующие данные об эффективности и целесообразности использования разных способов терапии характеризуются большим разнообразием и нередко приводят к полярности взглядов. Иными словами, на сегодняшний день отсутствует общедоступный высокоэффективный метод лечения ОА коленного сустава (Кролевец И.В. с соавт 2012; Найманн А.И. с соавт. 2012; Балабанова Р.М. 2013; Andia I. et al. 2012).

Возможности управления биологическим потенциалом собственного организма пациентов и использования его в лечебном процессе находят подтверждение в ряде работ, посвященных применению аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы (ОТП). Содержащиеся в альфа-гранулах тромбоцитов факторы роста могут одномоментно или постепенно выделяться в окружающие ткани, оказывая направленное воздействие на течение воспаления и репаративный процесс (Широкова Л.Ю. с соавт. 2012; Самодай В.Г. с соавт. 2015, 2016; Kon E. et al. 2011, 2012, 2015; Andia I. et al. 2012).

В настоящее время активно идет изучение результатов внутрисуставного введения ОТП у пациентов с ОА коленного сустава. Существующие данные клинических исследований свидетельствуют о выраженном симптом-модифицирующем действии ОТП, что обуславливает тенденцию к расширению использования методики в лечении гонартроза. В тоже время остается невысоким доказательный уровень сведений экспериментальных и клинических исследований, подтверждающих хондропротективное действие и структурно-модифицирующее влияние ОТП при ОА (Andia I. et al. 2012; Guner S. et al 2012; Kon E. et al. 2015; Riboh J.C. et al. 2016).

Обращают на себя внимание крайне немногочисленные данные, включающие противоречивые результаты сравнительных исследований использования аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы с другими средствами, такими как препараты гиалуроновой кислоты (ГК), нестероидные противовоспалительные средства (НПВС) при лечении пациентов с ОА коленного сустава (Kon E. et al. 2011; Filargo G. et al. 2012, 2015; Cezra F. et al. 2012; Forogh D. et al. 2015; Kazemi D. et al. 2015; Sadabad H.N. et al. 2016; Sanchez M. et al. 2016; Yin W.J. et al. 2016; Durant T.J. et al. 2017).

Степень разработанности темы исследования

Сохраняющаяся тенденция к расширению применения внутрисуставного введения аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы в лечении пациентов с остеоартрозом коленного сустава существенно опережает накопление данных клинических и экспериментальных исследований, подтверждающих ее эффективность. (Широкова Л.Ю. с соавт. 2012; Самодай с соавт. 2015, 2016, Andia I. et al. 2012; Guner S. et al 2012; Kon E. et al. 2015; Riboh J.C. et al. 2016). Не решен вопрос о показаниях к применению, дозировке и кратности внутрисуставного введения аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы, способах ее получения. В тоже время экспериментальные свидетельства, касающиеся хондропротективного действия и структурномодифицирующего влияния аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы немногочисленны, противоречивы, что и определило цель нашей работы (Milano G. et al. 2010; Andia I. et al. 2012; Koenig T. J. et al. 2014; Oliveira M.Z. et al. 2014; Rezende M.U. 2015; Kon E. 2015).

Цель исследования: улучшить результаты консервативного лечения пациентов с остеоартрозом коленного сустава путем экспериментально обоснованного внутрисуставного введения аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы.

Задачи исследования

1. Выявить структурные изменения и определить показатели активности металлопротеиназы -1 и металлопротеиназы-13 в гиалиновом хряще у крыс при моделировании остеоартроза коленного сустава в эксперименте.
2. Охарактеризовать гистологическую картину гиалинового хряща и показатели активности его металлопротеиназы-1 и металлопротеиназы-13 в группах животных после моделировании остеоартроза коленного сустава и внутрисуставной монотерапии аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмой, препаратом гиалуроновой кислоты и их совместного последовательного применения.
3. Разработать и обосновать возможность применения нового способа лечения пациентов с остеоартрозом коленного сустава.
4. Сравнить эффективность монотерапии аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмой и монотерапии препаратом гиалуроновой кислоты у пациентов с остеоартрозом коленного сустава I-II стадии;
5. Дать оценку результатам применения аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы у пациентов при поздних III-IV стадиях остеоартроза коленного сустава.
6. С позиции доказательной медицины оценить клинические исходы монотерапии аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы у пациентов с остеоартрозом I-II и III-IV стадий.

Научная новизна результатов исследования

Впервые в эксперименте изучено влияние разных схем внутрисуставной терапии с применением аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы и препарата гиалуроновой кислоты на течение деструктивных процессов и показатели активности металлопротеиназы-1 и металлопротеиназы-13 в гиалиновом хряще при моделировании остеоартроза коленного сустава у крыс.

Впервые разработан новый способ лечения пациентов с остеоартрозом коленного сустава, заключающийся в последовательном применении

аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы и препарата гиалуроновой кислоты (Патент РФ на изобретение № 2572447 от 10.01.2016).

Впервые с позиции доказательной медицины оценена эффективность применения аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы у пациентов на разных стадиях остеоартроза коленного сустава.

Теоретическая и практическая значимость работы

Изучение гистологической картины гиалинового хряща и показателей активности металлопротеиназы-1 и металлопротеиназы-13 на фоне экспериментального остеоартроза коленного сустава у крыс после применения аутологичной обогащенной тромбоцитами аутологичной плазмы и препарата гиалуроновой кислоты позволяет оценить их хондропротективное и репаративное действия.

Изучение применения аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы у пациентов с гонартрозом на разных стадиях позволяет оценить ее возможности купирования болевого синдрома и восстановления функции коленного сустава.

Разработанный способ лечения пациентов с гонартрозом, заключающийся в последовательном внутрисуставном введении аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы и препарата гиалуроновой кислоты, эффективно снижает болевой синдром и улучшает функцию коленного сустава.

Изучение применения аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы у пациентов с остеоартрозом коленного сустава на разных стадиях позволяет сделать вывод о клинической эффективности и безопасности методики.

Методология и методы диссертационного исследования

Методология диссертационного исследования построена на изучении и обобщении литературных данных по результатам лечения пациентов с гонартрозом путем внутрисуставного введения обогащенной тромбоцитами аутологичной плазмы, оценке степени разработанности и актуальности темы. В соответствии с поставленной целью и задачами был разработан план выполнения

всех этапов диссертационной работы; выбраны объекты исследования и подобран комплекс современных методов исследования.

Объектами экспериментального исследования стали половозрелые крысы линии «Wistar», а клинического исследования - пациенты с гонартрозом I-II и III-IV стадии по J. Kellgren, J. Lawrence (1957). В процессе экспериментального исследования использованы морфологический, гистохимический и иммуногистохимический методы исследования. При клиническом исследовании проводили проспективное анкетирование пациентов в разные периоды времени с использованием оценочных шкал. Математическую обработку данных выполняли методами базисного статистического анализа на персональном компьютере с использованием программ «Excel Microsoft Office 2 (Microsoft, США) и «STATISTICA 6.0» (Stat Soft Inc., США).

Положения, выносимые на защиту

1. Морфологические изменения и динамика показателей активности металлопротеиназы-1 и металлопротеиназы-13 в гиалиновом хряще при моделировании остеоартроза у крыс после внутрисуставного введения аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы свидетельствуют о её хондропротективном и репаративном эффекте.

2. Новый способ лечения, заключающийся в последовательном внутрисуставном применении аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы и препарата гиалуроновой кислоты, позволяет улучшить гистологическую картину суставного гиалинового хряща на фоне моделирования остеоартроза в эксперименте.

3. Применение монотерапии аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмой у пациентов с гонартрозом I-II стадии эффективно снижает выраженность болевого синдрома и улучшает функцию коленного сустава на протяжении 12 месяцев наблюдения, превышая практически в два раза аналогичные показатели при внутрисуставной монотерапии препаратом гиалуроновой кислоты.

4. Использование аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы у пациентов с гонартрозом III-IV стадии эффективно снижает выраженность болевого синдрома и улучшает функцию коленного сустава к 6 неделе с момента окончания курса лечения.

Степень достоверности результатов исследования

Достоверность научных выводов и положений основана на достаточном по количеству клиническом материале, современных методах исследования и статистической обработке данных. Полученные результаты исследования проанализированы с помощью традиционных методов описательной статистики с использованием вариационного, регрессионного, дисперсионного, системного многофакторного анализа с позиции доказательной медицины.

Апробация результатов исследования

Основные результаты исследования доложены и обсуждены на Всероссийских научно-практических конференциях «Артромот» (Москва, 2013, 2015, 2016); Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 70-летию ГБУЗ СарНИИТО (Саратов, 2015); научно-практической конференции профессорско-преподавательского состава, посвященной 80-летию Волгоградского государственного медицинского университета (Волгоград, 2015), открытой научно-практической конференции в ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Волгоград, 2016); XI–XII конгрессах Российского Артроскопического Общества (Москва, 2015, 2016), I Международном конгрессе ассоциации ревмоортопедов (Москва, 2017).

Внедрение результатов исследования

Предложенная методика внутрисуставного введения аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы внедрена в клиническую практику ГБУЗ «Клиническая больница № 12», госпиталь ФКУЗ «МСЧ МВД России

по Волгоградской области», ГБУЗ «Волгоградский областной клинический госпиталь ветеранов войн».

Материалы диссертации внедрены в учебный процесс на кафедре травматологии, ортопедии и военно-полевой хирургии с курсом травматологии и ортопедии факультета усовершенствования врачей ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России.

Личный вклад автора

Автором определены цель и задачи исследования, осуществлен подробный анализ современной отечественной и зарубежной литературы по изучаемой проблеме, разработан план исследования. Диссертант лично проводил экспериментальное исследование на животных. Выполнял клиническое исследование. Автором проведен подробный анализ полученных результатов с последующей статистической обработкой данных, сформулированы обоснованные выводы и разработаны практические рекомендации.

Связь темы диссертации с планом основной научно-исследовательской работы университета

Диссертационная работа выполнена в рамках комплексной научной темы кафедры травматологии, ортопедии и военно-полевой хирургии с курсом травматологии и ортопедии факультета усовершенствования врачей ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России «Аутологичная обогащенная тромбоцитами плазма в лечении пациентов с остеоартрозом коленного сустава», государственный регистрационный знак № 115030802138 от 08.03.2015 года.

Соответствие диссертации паспорту специальности

Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 14.01.15 – Травматология и ортопедия, в частности, экспериментальной и клинической разработке методов лечения заболеваний и повреждений опорно-двигательной системы и внедрении их в клиническую практику.

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 13 научных работ в отечественной печати, из них 5 статей – в журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации для публикации результатов кандидатских и докторских диссертаций. Получен 1 патент РФ на изобретение.

Структура и объем диссертации

Работа изложена на 181 странице машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, трех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы и приложений. Список литературы включает в себя 66 отечественных и 183 зарубежных источника. Диссертация иллюстрирована 14 таблицами, 42 рисунками.

Глава 1.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Современные представления о патогенезе остеоартроза коленного сустава

В нормальном суставном гиалиновом хряще (СГХ) процессы деструкции и репарации ткани происходят достаточно медленно, находятся в равновесии и являются основой физиологического ремоделирования [63, 204].

На фоне воспалительных и деструктивно-дистрофических процессов в суставе происходят качественные и количественные изменения хондроцитов и межклеточного матрикса гиалинового хряща [3, 5, 7, 13, 26, 55, 56, 71, 75, 103, 136, 150, 165, 219].

На сегодняшний день существует достаточно много аргументов в пользу воспалительной природы ОА коленного сустава. Существующие данные свидетельствуют о нарушении равновесия между провоспалительными (интерлейкин (ИЛ), ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-11, ИЛ-17, ИЛ-18, фактор некроза опухоли альфа (ФНО- α)) и противовоспалительными (ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-13, тканевой ингибитор металлопротеиназ (ТИМП), факторы роста) цитокинами [7, 73, 136, 137, 140, 143, 221, 235]. Современные исследования утверждают, что предвестниками воспаления в суставе служат белки S100A8 и A9, с которых начинается цепь реакций активации ядерного фактора роста каппа В (NF- κ B) синовиальных фибробластов [73, 184, 189]. В дальнейшем высвобождаются многие провоспалительные цитокины, хемоаттрактант моноцитов, которые, в свою очередь, играют важную роль в активации металлопротеиназ (ММП) [73, 84, 136, 137, 140, 143, 208, 221, 235]. Одними из наиболее важных составляющих в цепочке развития воспалительного процесса в суставе являются ИЛ-1 α и ФНО- α , что делает их очевидной мишенью для создания лекарственных средств лечения

заболевания. Причем необходимым является именно блокирование обоих веществ, так как они обуславливают развитие воспаления процесса независимо друг от друга [73, 80, 100].

Макрофаги, благодаря выработке ИЛ-1а и ФНО-α, инициируют и поддерживают воспалительный процесс, стимулируя продукцию хондроцитами медиаторов воспаления: простагландина E₂ (PGE₂), NO супероксида, протеолитических ферментов (металлопротеиназ и т. п.) [27, 41, 73, 136, 137, 139, 165, 174, 178, 219].

Определенную роль в развитии и поддержании воспаления играют адипокины, такие как вистатин, адипонектин и лептин, содержащиеся в жировой ткани сустава (тело Гоффа) [7, 74, 219].

Воспаление, протекающее в суставе, вызывает изменения синовиальной оболочки, субхондральной кости. Эндогенные продукты, образующиеся в результате биodeградации гиалинового хряща, в том числе фрагменты коллагена второго типа, фагоцитируются синовиальными клетками, провоцируя синовит и обеспечивая хронизацию воспалительного процесса. В свою очередь, активированные синовиальные клетки продуцируют катаболические и провоспалительные медиаторы, инициирующие избыточную продукцию протеолитических ферментов [7, 41, 73, 136, 137, 139, 165, 174, 178, , 218, 219, 233].

Воспаление в суставе сопровождается нарушением процессов ангиогенеза в субхондральной кости. В норме хондроциты служат источником эндогенных ингибиторов ангиогенеза, таких как тропонин-1, хондромодулин и ТИМП. Но в условиях воспаления происходит активация проангиогенных факторов, например, фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), также известного как фактор проницаемости (PF), так как это облегчает экстравазацию плазмы, пролиферацию эндотелиальных клеток и рост капилляров. Содержание VEGF увеличивается при ОА коленного сустава, благодаря нескольким механизмам. Так, ИЛ-1b и ФНО-α стимулируют выработку VEGF синовиоцитами, клетками субхондральной кости, хондроцитами. Гипоксия и синовит способствуют

активации индуцированного гипоксией фактора 1 α (HIF-1 α), за которым следует VEGF выработка, что, в свою очередь, приводит к повышению уровня MMP-1, MMP-13 и снижению уровней TIMP-1 и TIMP-2 [27, 41, 73, 84, 90, 100, 101, 120, 124, 176–178, 185, 219, 249].

Кроме того, образование новых сосудов совмещено с ростом тонких немиелинизированных сенсорных нервов, благодаря повышению уровня фактора роста нервов, что также объясняет возникновение болевого синдрома при ОА коленного сустава. Медиаторы воспаления оказывают определенное влияние на нервные окончания в тканях сустава, чем обусловлено нарушение проприоцептивной чувствительности, сохранение болевого синдрома и нарушение функции [73, 249].

На фоне воспаления в коленном суставе возникают деструктивные изменения СГХ, в котором нарушается баланс между процессами репарации и деструкции с преобладанием последних [7, 25, 26, 73, 104, 122, 132]. В экспериментальных исследованиях доказано, что выработка активных оксидов, в частности оксида азота, становится фактором прогрессирующего течения деструктивно-дистрофических процессов в СГХ [73, 185]. С течением времени пролиферативная активность хондроцитов существенно понижается, количество клеток уменьшается, выработка протеогликанов практически останавливается, что влечет за собой потерю воды. В результате образуются множественные эрозии на суставной поверхности [7, 71, 73, 185, 209].

Следует отметить, что ОА коленного сустава сопровождается старением хондроцитов. Существуют свидетельства, что цитокины индуцируют стареющий фенотип хондроцитов, что впоследствии вызывает апоптоз клеток, или «хондроцитарную смерть». В настоящее время существуют противоречивые данные о скорости апоптоза хондроцитов СГХ при ОА, причем количество клеток с признаками апоптоза может составлять от 1 до 20 % и зависеть от стадии и продолжительности заболевания [73, 75, 139, 150, 209].

Вклад «хондроцитарной смерти» в патогенезе ОА коленного сустава имеет определенное значение, но не является ведущим звеном в развитии этого заболевания [73, 75].

Современные представления позволяют говорить о некоторых общих чертах развития ОА коленного сустава, объясняющих довольно типичную клиническую и рентгенологическую картину заболевания, стадийность его развития [7, 13, 21, 22, 25, 26, 32, 56, 87, 88, 103, 181, 191-193, 199, 213, 219, 247].

Выделяют три стадии ОА коленного сустава по Н.С. Косинской (1961): нарушение матрикса хряща, хондроцитарная реакция на нарушение – уменьшение синтетической активности хондроцитов – и прогрессирующее дегенеративное повреждение хрящевой ткани [22, 179].

На первой стадии ОА коленного сустава наблюдают нарушение однородности суставных поверхностей, поверхностное разволокнение хряща, происходит нарушение агрегации и структуры протеогликанов, уменьшается концентрация макромолекул агреканов. Ввиду накопления в тканях продуктов деградации СГХ и недоокисленных метаболитов изменяется гидрофильность матрикса, что приводит к набуханию хряща. В итоге, увеличивается проницаемость хрящевой ткани для воды и других молекул, уменьшается эластичность и плотность матрикса [7, 13, 21, 22, 25, 26, 32, 56, 72, 73, 103, 191, 192, 219].

Вторая стадия развития ОА коленного сустава характеризуется двумя противоположными процессами – усилением синтеза матрикса и деградацией компонентов матрикса, клеточной пролиферацией. В свою очередь, пролиферация хондроцитов и выработка ими глюкозаминогликанов выражены незначительно. Кроме того, новообразованные хондроциты часто вырабатывают неполноценные протеогликаны. В результате неполноценного регенеративного процесса не происходит восстановления поврежденного хряща. Морфологические проявления во второй стадии складываются из разволокнения, растрескивания, распространяющегося в поверхностных и глубоких зонах хрящевой ткани. Наблюдается углубление трещин гиалинового хряща, усиление нерегулярностей

суставных поверхностей. В дальнейшем снижается амортизирующая функция и механическая прочность хряща, что, в свою очередь, вызывает нарастание трения и травматизацию суставных поверхностей при движениях [22, 71-73, 103, 191, 192, 219].

Превалирование катаболических процессов над анаболическими приводит к развитию третьей стадии ОА коленного сустава, характеризующейся практически полным угасанием анаболических процессов в хрящевой ткани. Уменьшение количества хондроцитов связано с потерей защитной роли матрикса и обратной регуляцией хондроцитарной активности. Морфологическая картина третьей стадии развития ОА складывается из различных видов нарушения структуры – разволокнения, растрескивания, сепарации вплоть до полного отсутствия хряща и образования полнослойных дефектов с оголенной субхондральной костью [13, 21, 22, 25, 26, 32, 56, 72, 73, 103, 191, 192, 219].

Компенсаторная и декомпенсаторная реакция других тканей сустава возникает соответственно изменениям в гиалиновом хряще. Снижение его амортизирующих свойств приводит к травматизации субхондральной кости и перераспределению микроциркуляции в ней. Результатом этого являются субхондральный склероз, образование остеофитов, формирование кистоподобных костных полостей, содержащих слизистую субстанцию, фиброзную или хрящевую ткань. Концентрация давления на суставные поверхности с наиболее выраженными повреждениями хряща приводит к возникновению деформации, статическому растяжению боковых структур капсульно-связочного аппарата (КСА) и нестабильности [13, 21, 22, 25, 26, 32, 56, 72, 73, 103, 191, 192, 219].

ОА коленного сустава сопровождается снижением вязкоэластических свойств синовиальной жидкости и деструкции коллагеновой сети, что дополнительно усиливает утрату амортизационных свойств хрящевой пластинки и ведет к дальнейшему повреждению незащищенных клеток [3, 5, 7, 22, 26, 41, 72, 73, 76, 77, 219].

Деструкция хрящевой ткани вызывает воспалительные, а затем и фиброзные изменения в капсуле, сухожилиях и мышцах, окружающих сустав, что приводит к уменьшению амплитуды движений [7, 13, 14, 73, 219].

Таким образом, на сегодняшний день накоплен большой объем информации о патогенезе ОА коленного сустава. Современные данные свидетельствуют о воспалительной природе этого заболевания. Но, несмотря на достигнутый прогресс, остается непонятным пусковой механизм развития ОА.

1.2. Роль матриксных металлопротеиназ в патогенезе остеоартроза коленного сустава

Матриксные металлопротеиназы – семейство внеклеточных металлопротеиназ, способных гидролизовать основные белки внеклеточного матрикса. За содержание в активном центре молекулы Zn^{2+} относятся к семейству цинковых металлопротеиназ [1, 2, 18, 27, 29, 49, 58–61, 66]. По субстратной специфичности ММП разделены на 4 подсемейства: коллагеназы, желатиназы, стромелизины, остальные ММП [18, 49, 58-61, 58].

В физиологических условиях ММП секретируются фибробластами, хондроцитами, эпителиальными клетками, макрофагами, фагоцитами в очень малых количествах в неактивном состоянии. ММП играют решающую роль в реализации таких физиологических процессов, как морфогенез, резорбция, ремоделирование тканей [18, 49, 58-61, 58].

Важной особенностью ММП является их способность к индукции под действием различных факторов. Регуляция активности ферментов осуществляется цитокинами, факторами роста, различными химическими соединениями (липополисахариды и др.), факторами, воздействующими на поверхность клетки, факторами, снижающими синтез ММП (глюкокортикостероиды, эстроген и т. п.). Тканевые ингибиторы ММП подавляют активность коллагеназ при связывании с ферментами в соотношении 1:1 при образовании стойких нековалентных

комплексов [1, 2, 17, 18, 27-29, 47-49, 58-61, 66, 84, 89, 100, 105, 120-122, 140, 147, 154, 173-175, 226, 231, 242].

В СГХ ведущая роль в процессах резорбции и ремоделирования отведена ММП, относящимся к классу коллагеназ [2,58-61]. В настоящее время наибольшее значение имеют три представителя этого подсемейства: коллагеназа I типа, интерстициальная коллагеназа, или ММП-1; коллагеназа нейтрофилов, или ММП-8; коллагеназа-3, или ММП-13 [1, 2, 18, 58-61, 58, 73].

ММП-1 – первый тканевой фермент, который гидролизует спиральную область коллагена. Коллагеназа-1 синтезируется фибробластами, хондроцитами, макрофагами, кератиноцитами, эндотелиальными клетками и остеобластами. Выработка стимулируется эпидермальным фактором роста, цитокинами и фактором некроза опухолей, а ингибируется ТИМП и др. Коллагеназа-1 принимает участие в деградации коллагена и, следовательно, в процессе ремоделирования внеклеточного матрикса. К тому же фермент может расщеплять казеин, желатин, энтактин и линкпротеин хряща. При ОА уровень коллагеназы-1 значительно повышается [7, 25, 26, 103, 136, 150, 183]. Современными исследованиями показана новая функция ММП-1, которая регулирует регрессию сосудов в трехмерных компонентах внеклеточного матрикса. В результате, активированная коллагеназа-1 ведет к протеолизу коллагена, внеклеточного матрикса и регрессии ткани [1, 2, 17, 18, 27-29, 47-49, 58-61, 66, 51, 179].

ММП-8 (также известная как нейтрофильная коллагеназа и коллагеназа-2) содержится в специфических гранулах полиморфноядерных лейкоцитов в виде неактивного профермента. Различные цитокины стимулируют высвобождение из нейтрофилов ММП-8. Коллагеназа-2 расщепляет белки, такие как: фибронектин, хрящевой агрекан и серпины и т. п. Активность ММП-8 возрастает в месте острого воспаления одновременно с полиморфноядерной инфильтрацией, а в зоне хронического воспаления поддерживается пролонгированным воздействием провоспалительных цитокинов. Нейтрофильная коллагеназа в 3 раза активнее расщепляет коллаген I типа, по сравнению с другими интерстициальными металлопротеиназами. ММП-8 является ключевым

ферментом, начинающим разрушение внеклеточного матрикса при патологических воспалительных процессах, особенно ОА [1, 2, 17, 18, 27-29, 47-49, 58-61, 66, 73, 103, 121, 122, 136, 154].

ММП-13, или коллагеназа-3, открыта в клетках карциномы молочной железы, а затем определена ее экспрессия клетками нескольких типов, включая эндотелий [73]. Активация коллагеназы-3 происходит под воздействием провоспалительных цитокинов, а ее снижение, помимо влияния естественных факторов, возможно и при помощи препаратов ГК [140]. Современные исследования подтверждают усиление активности ММП-13 при ОА коленного сустава [73, 103, 136, 150]. Существует мнение, что только в пораженном суставе можно обнаружить активную коллагеназу-3 [142, 179]. ММП-13 наиболее эффективно расщепляет коллаген типа II и агрекан по сравнению с другими коллагеназами, что является одной из ведущей причиной утраты нормальных физико-химических свойств СГХ [1, 2, 17, 18, 27-29, 47-49, 58-61, 66, 103, 136, 150, 188].

Ранее считалось, что главная роль в деструкции матрикса принадлежит коллагеназе-1, затем установлено большое влияние коллагеназы-3 [103, 136, 150].

Помимо коллагеназ, определенное значение в патогенезе ОА имеют металлопротеиназы других групп.

Так, ММП-2 (желатиназа А) секретируется фибробластами, нейтрофилами, макрофагами, моноцитами. Уровень экспрессии желатиназы А относительно постоянен и не поддается влиянию цитокинов и факторов роста [99]. ММП-2 участвует в деградации коллагена IV типа, главного компонента базальных мембран и желатина, разрушает другие типы коллагенов (V, VII и X), эластин и фибронектин. Имеются данные о повышении экспрессии гена ММП-2 в хряще при остеоартрозе [103, 136, 150]. Желатиназа А расщепляет моноцитарный хемотаксический белок-3, что приводит к уменьшению воспаления. Двойной эффект действия ММП-2 (как провоспалительный, так и противовоспалительный) описывается различными исследователями [89, 105].

ММП-3 (стромелизин-1) участвует в деградации многих компонентов соединительной ткани, включая протеогликаны, коллаген типов II, IV, IX и XI, ламинин и фибронектин, а также внеклеточного матрикса через активацию проколлагеназы-1. Активность ММП-3 ингибируется ТИМП. Полагают, что равновесие между ними является определяющим фактором в разрушении межклеточного матрикса. В свою очередь, ММП-3 может активировать проформы ММП-1, 7, 8 и 13, что представляет собой ключевой момент в коллагенолизе хряща, особенно при ОА коленного сустава [73, 103, 136, 150].

Современные исследования отмечают некоторую роль ММП-8, 9, 16, 28 и других ферментов, заключающуюся в большей степени в активации коллагеназ [73, 121].

Таким образом, ММП играют важное значение в течении ОА коленного сустава, а данные современных исследований среди всех изученных ММП большую роль отводят ММП-1, ведущая к деструкции коллагена, внеклеточного матрикса и регрессии ткани, и ММП-13, расщепляющей коллаген II типа и агрекан. В результате изменяются физико-химические и биомеханические упругие свойства СГХ, что является неотъемлемой частью патофизиологической цепочки развития ОА коленного сустава [1, 2, 17, 18, 27-29, 47-49, 58-61, 66, 84, 89, 100, 105, 120-122, 140, 147, 154, 173-175, 214, 226, 231, 242].

1.3. Роль экзогенной гиалуроновой кислоты в течении остеоартроза коленного сустава

Вискосапплементарная терапия (ВСТ) – воздействие на патологические процессы при ОА коленного сустава путем восстановления нормальных реологических свойств синовиальной жидкости (СЖ) при введении в сустав экзогенного гиалуронана (ГК) [81, 148].

Гиалуронан принадлежит к группе глюкозаминогликанов [82, 148, 163]. Это простой линейный полисахарид (глюкозаминогликан), состоящий из

повторяющихся дисахаридных соединений N-ацетилглюкозамина и глюкуроновой кислоты, связывающихся между собой еще β_{1-4} и β_{1-3} гликозидными связями. Линейные молекулы гиалуронана принимают спиральную конфигурацию, а поскольку имеют большие размеры, формируют сетчатые структуры. Средняя молекулярная масса ГК у здорового человека составляет от 4000 до 5000 кД, а концентрация от 2,5 до 4,0 мг/мл [6, 81, 82, 85, 140].

Собственная гиалуроновая кислота синтезируется хондроцитами благодаря ферменту гиалуронансинтазе. Деградация происходит под воздействием гиалуронидазы. Собственная гиалуроновая кислота в суставе осуществляет несколько важных функций: является основным веществом, определяющим вязкостные и эластические свойства СЖ, что, в свою очередь, снижает трение между сочленяющимися поверхностями, позволяет проявлять шок-абсорбирующие свойства при импакционных и срезывающих нагрузках на сустав; обеспечивает физиологические процессы ремоделирования тканей сустава [82, 187, 240]. Гиалуронан из СЖ связывается с хондроцитами посредством рецептора CD₄₄, стимулирует пролиферацию клеток, выработку глюкозаминогликанов и новых молекул гиалуроновой кислоты [94, 95, 112, 140, 144-146, 148, 217]. В экспериментальной модели обнаружена практически полная потеря протеогликанов с поверхности хряща после искусственного подавления экспрессии CD₄₄ хондроцитов [143, 154].

Помимо СЖ, гиалуронаны содержатся и во внеклеточном матриксе СГХ. Нормальный уровень гиалуроновой кислоты в суставном хряще обеспечивает образование перекрестных связей между длинными цепями протеингликанов, глюкозаминогликанов, что в значительной мере затрудняет миграцию лейкоцитов, проникновение их в хрящевой матрикс и развитие воспалительного процесса, разрушающего ткань [143].

Они служат своеобразными «мостиками», соединяющими длинные цепочки молекул протеингликанов, что обеспечивает нормальные биомеханические свойства суставного гиалинового хряща [232].

В ходе воспаления при ОА во внеклеточном матриксе и СЖ коленного сустава наблюдаются качественные и количественные изменения ГК в сторону снижения молекулярной массы и деградации пространственной структуры гиалуронанов. Физико-химические свойства СЖ и СГХ нарушаются, что является неотъемлемой частью патофизиологической цепочки развития ОА коленного сустава [19].

Е. А. Balazs с соавт. в 1975 г. предложили идею использования экзогенной гиалуроновой кислоты для улучшения функции сустава, а в 1985 г. опубликовали дальнейшие исследования по лечению ОА коленного сустава [81]. В 1986 г. был введен термин «гиалуроновая кислота», или «гиалуронат». Ввиду того, что период полувыведения экзогенной гиалуроновой кислоты в суставе составляет около 17 часов, более длительная эффективность препарата обусловлена различными физиологическими действиями [6, 94, 108, 187].

Считается, что ГК может стимулировать образование собственного полноценного гиалуронана [187].

Экзогенная гиалуроновая кислота способна снижать уровень апоптоза хондроцитов с одновременным усилением их пролиферации, стимуляции выработки коллагена, протеингликанов и насыщении им гиалинового хряща, проявляя тем самым хондропротективный эффект [187]. Помимо этого препарат обладает способностью опосредованно через рецепторы CD₄₄ подавлять выработку провоспалительных цитокинов, ММП и других ферментов. Лечение ГК демонстрирует резкое снижение спровоцированного ИЛ-1 β оксидативного стресса, поддерживаемого в основном оксидом азота, синтезируемого синовиальной оболочкой. Комплекс «гиалуроновая кислота – CD₄₄» также обуславливает снижение продукции простагландина E₂ и повышение уровня белка Hsp 70 [147, 148, 154, 187, 232, 240].

Эффекты ГК зависят от молекулярной массы препарата и его концентрации. Так, под действием высокомолекулярного гиалуронана собственной гиалуроновой кислоты образовывалось больше, чем после введения низкомолекулярной формы ГК [94, 140, 187].

S. Julovi и соавт. (2004) установили, что гиалуроновая кислота со средней молекулярной массой 800 и 1900 кДа проникала в околочлеточное пространство хрящевого матрикса и через рецепторы CD₄₄ подавляла активность ИЛ-1, индуцированного ММП-1 [140].

В различных экспериментальных моделях были продемонстрированы антиоксидантные свойства гиалуронана, которые также зависели от молекулярной массы и концентрации [94, 99, 108, 119, 140, 143, 144, 158, 159, 232, 238]. Можно предположить, что наличие в СЖ фрагментов гиалуронана малой молекулярной массы могло стимулировать индуцибельную синтазу оксида азота, а введение ГК высокой молекулярной массы приводит к снижению концентрации NO [7, 55, 108, 144, 147, 154].

Дополнительной, зависящей от молекулярного веса гиалуроновой кислоты функцией, по-видимому, являлось обезболивание [187].

Таким образом, именно этим объясняется положительный эффект ВСТ в более отдаленные сроки наблюдения.

Влияние экзогенного гиалуронана на суставной хрящ описано в многочисленных экспериментальных исследованиях. Введение гиалуронана в суставы животных с экспериментально индуцированным ОА коленного сустава сопровождалось сохранением толщины хряща и защитой его поверхностного слоя. Экзогенный гиалуронан уменьшал размеры зон эрозирования, предупреждал потерю хондроцитов [94, 99, 108, 119, 140, 143, 144, 158, 159, 205, 232, 238].

На сегодняшний день заслуживают внимания несколько экспериментальных исследований, подтверждающих выраженный хондропротективный эффект при ОА коленного сустава.

P. Li с соавт. (2012) оценили эффективность интраартикулярного введения гиалуронана HF-20 в коленные сустав кроликов с предварительно индуцированным хирургическим путем ОА. Через 4 недели отмечено улучшение гистологической картины СГХ по сравнению с контрольной группой [149].

T. J. Koenig и соавт. (2014) оценили влияние на течение экспериментального ОА коленного сустава у лошадей, индуцированного хирургическим (артроскопическим) повреждением СГХ, совместного внутрисуставного введения раствора пентозана сульфата, N-ацетилглюкозамина и препаратов ГК. В сравнении с контрольной группой (после внутрисуставного введения физиологического раствора), кроме улучшения макроскопической картины, спустя 70 дней после лечения других изменений, в том числе рентгенологических, гистологических, показателей СЖ достоверно выявлено не было [238].

Y. Muramatsu и соавт. (2014) сравнили эффективность препаратов ГК разной молекулярной массы у крыс с экспериментальным ОА коленного сустава, развившимся после открытой резекции медиального мениска. Спустя 16 недель походка у экспериментальных животных улучшилась после внутрисуставного введения ГК с молекулярной массой 800 и 6000 кДа по сравнению с контрольной группой, в то время как существенных различий между всеми группами в гистологическом виде достоверно не отметили [205].

M. Z. Oliveira и соавт. (2014) моделировали экспериментальный ОА коленного сустава у кроликов путем пересечения передней крестообразной связки. После внутрисуставного введения ГК разной молекулярной массы через 21 день отметили выраженный хондропротективный эффект без достоверных различий между препаратами [108].

S. Elmorsy и соавт. (2014) сравнили хондропротективный эффект у крыс с экспериментальным ОА коленного сустава, индуцированного путем пересечения передней крестообразной связки, между препаратами ГК с молекулярной массой 800 и 6000 кДа. Спустя 10 недель ГК с высокой молекулярной массой обеспечил лучшие физико-химические показатели СЖ и трения в отличие от препарата ГК с молекулярной массой 800 кДа. В остальном достоверных отличий не отметили [94].

F. U. Ozkan и соавт. (2015) провели сравнительную оценку эффективности внутрисуставных инъекций препарата ГК, теноксикама и витамина Е в лечении экспериментального ОА коленного сустава у кроликов, смоделированного путем

пересечения передней крестообразной связки. Спустя 8 недель после выполнения гистологического исследования структур коленного сустава выявлен сопоставимый друг с другом положительный хондропротективный эффект как у ГК, так и у теноксикама и витамина Е [158].

М. U. Rezende и соавт. (2015) исследовали эффективность лечения экспериментального ОА, развившегося в результате менискэктомии, диацерином и ГК. Через 7 месяцев провели гистологическое исследование структур коленного сустава, в том числе СГХ. От препарата ГК отмечен выраженный хондропротективный эффект, диацерин снизил степень выраженности дегенеративно-дистрофических процессов [119].

В экспериментальной работе Z. Zhang и соавт. (2016) были изучены сравнительные результаты использования внутрисуставно вводимых препаратов ГК разной молекулярной массы, дексаметазона и их комбинации для лечения экспериментального ОА коленного сустава у кроликов. Остеоартроз авторы моделировали путем пересечения передней крестообразной связки. Гистологическое и иммуногистохимическое исследование структур коленного сустава, проведенное спустя 12 недель показало усиление насыщения СГХ протеогликанами, коллагеном 10-го типа, снижение воспалительной реакции синовиальной оболочки, причем наиболее выраженный эффект наблюдался у животных, которым инъецировали комбинацию высокомолекулярного препарата ГК и дексаметазона [159].

Е. Şükür и соавт. (2016) моделировали экспериментальный ОА коленного сустава у крыс путем внутрисуставного введения фермента папаина и сравнили эффективность изолированного введения препарата ГК и в комбинации с хондроитин-сульфатом и N-ацетил-D-глюкозамином. Спустя 63 дня провели гистологическое исследование структур коленного сустава. Выявлено, что комбинация ГК с хондроитин сульфатом и N-ацетил-D-глюкозамином обладает большим хондропротективным потенциалом [99]

Вместе с тем, в ряде исследований описанное выше положительное воздействие ГК на течение ОА коленного сустава не отмечалось, что, возможно,

было связано с продолжительностью самого эксперимента, выбором способа моделирования гонартроза и временем начала терапии ГК [146]. Менее выраженный эффект наблюдался в тех исследованиях, когда ГК вводили в сустав непосредственно после операции (менискэктомии), инициирующей экспериментальный ОА. В исследованиях же с очевидными положительными результатами препарат вводили в сроки от 3 до 12 недель после вмешательства, а ОА моделировали неоперационным путем.

Хондропротективное воздействие гиалуронана на ткани суставов зависело от молекулярной массы препаратов. В ряде исследований указывалось на более выраженный положительный эффект, наблюдающийся после введения гиалуронана с большей молекулярной массой [94, 98, 140]. Напротив, в других исследованиях низкомолекулярные гиалуронаны демонстрировали более выраженное влияние на ткани сустава, особенно на синовиальную оболочку [16, 187]. Если в исследованиях *in vitro* биологическая активность высокомолекулярных гиалуронанов оказывалась предпочтительнее, чем у низкомолекулярных, то в экспериментальных моделях ОА такая закономерность не находила подтверждения. Наиболее убедительное объяснение отмеченных противоречий основывалось на заключении о лучшем проникновении низкомолекулярных гиалуронанов в матрикс синовиальной оболочки, а также на рецепторных воздействиях, при которых низкомолекулярные гиалуронаны демонстрируют более высокую активность. В исследованиях на крупных животных было показано, что препараты с молекулярной массой 500–1000 кДа в большей степени уменьшают проявления воспалительного процесса и способствуют восстановлению реологических свойств СЖ по сравнению с высокомолекулярными аналогами [187, 238].

Поиск и анализ научных публикаций в базах данных по доказательной медицине позволил выделить ряд исследовательских работ современных авторов, отражающих отдельные стороны клинической эффективности ВСТ при ОА коленного сустава. На сегодняшний день выводы вышедших за последние 5 лет клинических исследований, систематических обзоров,

посвященных эффективности применения препаратов гиалуроновой кислоты, неоднозначны.

Несколько систематических обзоров КИ, отражающих как положительные, так и отрицательные стороны ВСТ, заслуживают внимания.

A. W. Rutjes и соавт. (2012) проанализировали данные клинических исследований, посвященных изучению эффективности ВСТ пациентов с ОА коленного сустава с 1966 по 2012 г. Оценивая динамику болевого синдрома и нарушение функции сустава, авторы сделали заключение о невысокой результативности методики с повышенным риском нежелательных осложнений, обосновывая это низким уровнем дизайна соответствующих наблюдений и отсутствием каких-либо указаний о побочных эффектах [243].

D. Trigkilidas и соавт. (2013) из 188 найденных КИ, посвященных лечению пациентов с ОА коленного сустава, отобрали только 14. Анализ данных привел авторов к заключению о невысоком симптом-модифицирующем эффекте ВСТ с максимальным результатом, приходящимся на 7–8-ю неделю наблюдений, достоверность которого теряется спустя шесть месяцев [240].

В систематическом обзоре K. A. Campbell и соавт. (2015) и V. Strand и соавт. (2015), включающем наблюдения за более чем 20 000 пациентами с ОА коленного сустава на ранней стадии, сделали вывод о достоверном снижении болевого синдрома и улучшении функции сустава после внутрисуставного введения препарата ГК в течение 26 недель. Причем данная методика продемонстрировала хороший профиль безопасности [163, 215].

D. Jevsevar и соавт. (2015), проведя анализ результатов 19 рандомизированных, двойных слепых, плацебо-контролируемых клинических исследований, посвященных ВСТ пациентов с ОА коленного сустава, сообщали об отсутствии положительного эффекта по крайней мере у 60 респондентов по сравнению с группой плацебо. Причем увеличение выборки за счет большего количества других КИ сместило оценку эффективности в сторону положительной, обусловленную недостатком плацебо-контроля и двойного слепого контроля [244].

Учитывая разносторонние заключения имеющихся современных КИ и обзоров, касающихся ВСТ пациентов с ОА коленного сустава, С. Е. O'Hanlon и соавт. (2016) проанализировали повторно данные нескольких широкомасштабных обзоров и пришли к выводу о статистически значимом положительном влиянии препарата ГК на течение гонартроза по крайней мере в течение 6 месяцев после проведения ВСТ. Отсутствие стандартной модели оценки результатов лечения иногда приводит к противоречивым выводам о положительных и отрицательных сторонах методики. В то же время неполноценность собранных данных проанализированных КИ все же не позволила составить единого объективного мнения о ВСТ [146].

ВСТ зарекомендовала себя как эффективная методика с хорошим профилем безопасности [145, 146, 148, 166, 243, 244]. В то же время известны случаи развития тяжелых осложнений, в том числе и гнойных септических артритов, порой приводящих к инвалидизации пациента и летальным исходам, что обуславливает необходимость проведения лечения в строгих асептических условиях [67, 245].

Таким образом, на сегодняшний день большое количество существующих КИ, посвященных ВСТ пациентов с ОА коленного сустава на разных стадиях свидетельствуют о положительном симптом-модифицирующем и хондропротективном эффектах методики с хорошим профилем безопасности. В то же время отсутствие единой модели оценки результатов лечения, учета новых параметров при составлении дизайна наблюдений, небольшое количество КИ, отвечающих всем требованиям, подвергает эффективность и безопасность метода некоторым сомнениям, а отсутствие достаточного количества экспериментальных данных не позволяют сформировать полной и единой картины эффективности ВСТ.

1.4. Аутологичная обогащенная тромбоцитами плазма в лечении пациентов с остеоартрозом коленного сустава

Аутологичная обогащенная тромбоцитами плазма (ОТП или PRP – platelet rich plasma) – это плазма крови, содержащая тромбоциты в концентрации не менее чем $106/\mu\text{l}$ (микролитр), которая может быть активирована или не активирована до введения в ткани организма человека [73, 102].

Клиническая история ОТП берет свое начало с исследовательских работ М. А. Ferrary, которому удалось в 1987 г. получить и применить ее при проведении операции на открытом сердце [68, 123].

В 90-х гг. XX века широкое распространение получили инъекции ОТП в челюстно-лицевой и пластической хирургии. Их использовали для лучшего заживления ран после проведения реконструктивных операций. Некоторое время спустя методика вызвала интерес и у спортивных врачей. А. Mishra (2006) отметил высокую эффективность лечения спортсменов с эпикондилитом, или «локтем теннисиста», с помощью локального введения ОТП. Положительный результат был достигнут в 90 % случаев и сохранялся без ухудшения в течение 20 месяцев после применения плазмы [182, 198].

В 2000-х гг. нозологические границы применения ОТП существенно расширились. Плазму стали вводить не только с целью стимуляции репаративных процессов при травмах, но и для лечения некоторых заболеваний опорно-двигательной системы, таких как ОА коленного сустава. В немалой степени этому способствовало более глубокое понимание процессов, происходящих при деструктивно-воспалительных заболеваниях суставов с участием как в резорбции, так и в ремоделировании множества факторов роста, содержащихся в ОТП [64, 126, 196, 197].

Лечение ОТП является достаточно простым, малоинвазивным и недорогим методом, позволяющим сконцентрировать собственные факторы роста из цельной крови и ввести их непосредственно в сустав.

ОТП включает в себя тромбоциты, лейкоциты, собственно плазму с содержащимся в ней множеством веществ. Ее влияние обусловлено комплексным взаимодействием всех составных компонентов.

Тромбоциты представляют собой небольшие дисковидные клетки крови, концентрация которых в норме в циркулирующей крови составляет от 150 до $300 \times 10^9/\text{л}$ с периодом полураспада около 7 дней [135, 180, 190]. Кровяные пластинки образуются из мегакариоцитов и синтезируются в костном мозге. В тромбоцитах имеется сеть сократительных микротрубочек, включающих актин и миозин. Внутри клеток имеются два типа гранул, которые содержат АДФ, АТФ, серотонин, кальций и α -гранулы, содержащие факторы свертывания, факторы роста и другие белки. Как правило, в состоянии покоя тромбоциты являются нетромбогенными, то есть требуют активаторов для выполнения своей роли в гемостазе, репаративных процессах. При активации (например, под действием тромбина) они изменяют форму, развивают псевдоподии, которые обеспечивают дальнейшую агрегацию тромбоцитов, высвобождение гранул через канальцевую систему [220].

Выраженное влияние на репаративные процессы в суставе обусловлено способностью тромбоцитов воздействовать на воспаление, ангиогенез и проявляет анаболическое действие.

Содержащиеся в тромбоцитах вещества выступают в качестве первой линии медиаторов воспаления. Они влияют на трансэндотелиальную миграцию и активацию лейкоцитов, что обуславливает степень выраженности и продолжительность воспалительного ответа [73]. Обогащенная тромбоцитами аутологичная плазма влияет не только на миграцию нейтрофилов и моноцитов, но и активирует макрофаги [73, 91, 102, 126, 134, 152, 184, 197, 212, 225].

Воздействуя на миграцию нейтрофилов, ОТП может переводить хроническое воспаление в острое [73, 184]. Существуют исследования, утверждающие, что бедная лейкоцитами ОТП в отличие от богатой имеет гораздо меньший потенциал в регуляции активности и миграции нейтрофилов [70, 102, 109].

В настоящее время активно изучается влияние тромбоцитарных белков на миграцию моноцитов. Так, уже известно около 32 белков. Установлена зависимость влияния ОТП на хемотаксис моноцитов от концентрации тромбоцитов [73, 203]. Присутствующий в малой концентрации тромбоцитарный фактор 4 (PF4) в значительной мере подавляет апоптоз моноцитов и стимулирует дифференцировку макрофагов [225]. Благодаря современным технологиям установлено, что PF 4 индуцирует уникальную транскриптому макрофагов, что отлично от классической и воспалительной модели активации, а различные молекулы определяют ее сходство одновременно как про-, так и противовоспалительной моделями активации. Эти выводы были сделаны в соответствии с исследованиями действия ОТП, которые показали первоначальное подавление воспалительного процесса с последующим увеличением ИЛ-1b [73, 91].

ОТП может подавлять воспаление, при этом восстанавливая клетки по невоспалительному фенотипу. Это может быть обусловлено различными ростовыми факторами, в том числе и гепатоцитарным фактором роста (HGF), VEGF и трансформирующим фактором роста бета (TGF- β), обеспечивающим барьерную функцию эндотелия [73, 153, 155]. Установлено, что HGF индуцирует противовоспалительный цитокиновый профиль в эндотелиальных клетках путем подавления E-селектина [73, 137].

Courdet и соавт. (2010) в модели воспалительной активации показали присутствие HGF в среде, где отмечено снижение провоспалительного цитокина ИЛ-6 и повышение уровня противовоспалительного цитокина ИЛ-10 [73, 137]. Предполагается, что молекулярная основа противовоспалительного действия ОТП на хондроциты определяется способностью HGF блокировать ядерный фактор каппа В (NF- κ B) [73, 184]. В недавних исследованиях установлено, что ОТП, вступая в связь с коллагеновой матрицей, стимулирует восстановление коллагена 2-го типа и агреканов, подавленное ИЛ-1b и ФНО- α [73, 80, 143, 212, 216].

ОТП также стимулирует синтез HGF синовиоцитами, который преимущественно обнаруживается в плазме, нежели в самих тромбоцитах, что

определяет различный эффект ОТП в зависимости от пропорций [73, 137, 138, 195].

ОТП обладает выраженным влиянием на ангиогенез. Во многом это обусловлено содержанием в кровяных пластинках множества веществ, стимулирующих и подавляющих рост сосудов. В суставе из альфа-гранул тромбоцитов выделяются вещества, влияющие на тонус сосудов. Это серотонин, гистамин, простагландин E₂, простагландин D₂, АДФ/АТФ и Ca²⁺. Васкулярные клетки имеют рецепторы для серотонина, его высвобождение приводит к вазоконстрикции и увеличению проницаемости капилляров. Гистамин обладает как про-, так и противовоспалительным эффектом. Активаторы ангиогенеза способствуют увеличению проницаемости сосудистой стенки, росту и пролиферации эндотелиальных клеток. Также биологически активный липид сфингозин-1-фосфат может регулировать барьерную функцию эндотелиальных клеток [73, 90, 190, 241].

Альфа-гранулы тромбоцитов содержат быстро высвобождаемый резервуар для тромбоспондина-1 [73, 157]. Тромбоспондин-1 – потенциальный ингибитор пролиферации эндотелиальных клеток, стимулирует их апоптоз. Тромбоспондин-1 предотвращает связывание VEGF с клеточными рецепторами, тем самым снижая митогенные процессы и, соответственно, рост сосудов. J. L. Hsieh с соавт. (2010) в экспериментальном исследовании показали, что внутрисуставное введение тромбоспондина-1 на фоне экспериментального ОА коленного сустава снижает плотность микроциркуляторного русла, воспаление и прогрессирование деструктивно-дистрофических процессов по сравнению с контрольной группой [157]. Интересно, что альфа-гранулы тромбоцитов одновременно содержат как про-, так и антиангиогенные вещества, а их активация зависит от многих факторов, в том числе и от пропорций ОТП, состояния синовиальной среды сустава [73].

Помимо противовоспалительного эффекта, ОТП обладает хондропротективным действием. В отдельных исследованиях было высказано предположение, что хондропротективный эффект ОТП обусловлен анаболическим действием плазмы и подавлением активности

металлопротеиназ. Обогащенная тромбоцитами аутологичная плазма действительно содержит анаболические цитокины, включающие тканевые факторы роста, трансформирующий фактор роста бета 1 и бета 2 и др. Высокий уровень фактора роста соединительной ткани (CTGF/CCN₂) значительно стимулирует образование собственного коллагена и усиливает репаративные процессы [69, 73]. Кроме того, TGF- β_1 , TGF- β_2 и TGF- β_3 стимулируют образование коллагена 2-го типа и протеогликанов [73, 153, 155, 211, 222, 223]. TGF- β способствует дифференцировке стволовых клеток в хондроциты, что усиливает репаративные процессы в СГХ. Установлено, что TGF- β воздействует на рецепторы ALK₅ (activin-like kinase 5), затем через пути SMAD_{2,3} (similar to mothers against decapentaplegic) подавляет активность ИЛ-1, что стимулирует экспрессию ТИМП. В то же время с развитием ОА коленного сустава TGF- β может воздействовать на рецепторы ALK₁, а потом через пути SMAD_{1,5,8} усиливать формирование остеофицитов [73, 151]. Таким образом, среди ученых возникла идея, что с прогрессированием заболевания влияние ОТП на внутренние структуры коленного сустава становится неоднозначным [73].

Как было отмечено выше, влияние ОТП на течение ОА коленного сустава во многом зависит от пропорций ее составных компонентов. На сегодняшний день существуют несколько вариантов препаратов с обогащением плазмы тромбоцитами. D. M. Dohan Ehrenfest и соавт. (2013) определили четыре основные группы препаратов обогащенной тромбоцитами плазмы в зависимости от содержания клеток и фибрина [133, 196]:

а) чистая богатая тромбоцитами плазма или бедная лейкоцитами ОТП (Pure Platelet Rich Plasma, pPRP) – препараты без лейкоцитов и с низкой плотностью сети фибрина после активации;

б) богатая лейкоцитами ОТП (Leukocyte Platelet Rich Plasma, LPRP) – препараты с высоким содержанием лейкоцитов и с низкой плотностью сети фибрина после активации;

в) бедный лейкоцитами фибриновый сгусток (Pure Platelet Rich Fibrin, pPRF) – препараты без лейкоцитов и с высокой плотностью сети фибрина после активации;

г) богатый лейкоцитами фибриновый сгусток (Leukocyte Platelet Rich Fibrin, LPRF) – препараты с высоким уровнем лейкоцитов и высокой плотностью сети фибрина после активации.

ОТП готовится только из несвернувшейся крови, так как при свертывании основная масса тромбоцитов в этом случае оказывается в кровяном сгустке и уже не может быть из него извлечена, а сыворотка содержит очень небольшое количество кровяных пластинок. Кровь для получения ОТП отбирают в емкость с 5%-м раствором цитрата натрия, глюгициром и др., который блокирует весь каскад свертывания. Далее следует процедура центрифугирования, которая может проходить как в один, так и в два этапа, в ручном или автоматическом режимах. При одноэтапной методике получения ОТП в пробирке специальной формы препарат получается сразу и концентрируется в определенном месте [128]. При двойном центрифугировании вначале плазма и тромбоциты отделяются от эритроцитов и лейкоцитов. Во время второго этапа концентрация тромбоцитов значительно возрастает [133].

Если обратиться к литературным источникам, то окажется, что технологические показатели получения ОТП могут различаться. Существуют экспериментальные и клинические методики, а фирмы-производители предлагают большое количество специальных пробирок для получения ОТП [133]. Так, Е. Коп и соавт. (2011) используют двойное центрифугирование в течение 15 минут при 180 оборотах в минуту и в течение 10 минут при 3 500 оборотах в минуту. Объем крови, единовременно забираемой у пациента, составляет 150 мл. Всего получают около 20 мл ОТП с концентрацией тромбоцитов до 600 % от их нормального показателя в крови. Оставшуюся после введения в сустав ОТП замораживают при температуре -30 °С для последующего применения через 3 недели и более [125].

A. Gobbi и соавт. (2012, 2014) получают около 4 мл ОТП из 8 мл цельной крови путем однократного центрифугирования в течение 9 минут при 3 500 оборотах в минуту [129,201].

A. W. A. Baltzer и соавт. (2009) обогащают тромбоцитами плазму путем забора и замораживания 50 мл цельной крови при температуре -80°C с добавлением сульфата хрома и сохранением при $+37^{\circ}\text{C}$ в течение суток. Последующее центрифугирование и проведение через мембрану с порами 0,2 микрометра позволяет авторам получать около 6 мл препарата ОТП с высокой концентрацией ИЛ-1а и возможностью сохранения при температуре -20°C [78].

Важным этапом в технологии получения ОТП считается активация тромбоцитов, сопровождающаяся их разрушением и выбросом биологически активных веществ.

В некоторых коммерческих системах для изготовления ОТП в качестве сворачивающего агента используют бычий тромбин. В этом случае происходит относительно быстрая реакция – за 10 минут из тромбоцитов выделяется примерно 70 % содержащихся в них биоактивных факторов, а за 1 час – почти 100 % [197].

Другим способом активации тромбоцитов служит использование «фибриновой матрицы», образующейся из собственного фибрина в результате добавления к ОТП 10%-го раствора хлорида кальция перед вторым центрифугированием при двухэтапной методике. При этом интактные тромбоциты взаимодействуют с фибриновой сетью и активизируются, выделяя факторы роста. Но этот процесс происходит медленно, в течение 6–7 дней. В отдельных исследованиях описаны методики добавления 10%-го раствора хлорида кальция после второго центрифугирования, непосредственно перед введением плазмы в коленный сустав [31, 37, 38, 133, 197].

С целью активации ОТП предлагается также использовать коллаген II типа. Как и тромбин, он стимулирует выделение тромбоцитами PDGF и VEGF. Но образующийся в этом случае сгусток не подвержен такой сильной ретракции, как после воздействия тромбина [197].

В настоящее время отмечается тенденция к упрощению методики получения ОТП путем одноэтапного способа с использованием специальных пробирок, что в определенной степени обуславливает расширение географии применения ОТП в лечении пациентов с ОА коленного сустава все большим количеством врачей.

В современной медицинской науке количество исследований, оценивающих влияние ОТП на течение ОА коленного сустава, неизменно увеличивается.

На сегодняшний день известны результаты нескольких представительных по количеству наблюдений экспериментальных и клинических исследований, оценивающих использование ОТП в лечении пациентов с ОА коленного сустава.

М. Saito и соавт. (2009) вызывали развитие ОА коленного сустава путем пересечения передней крестообразной связки у кроликов. Внутрисуставное введение ОТП в сочетании с желатиновыми гидрогелевыми микросферами показало на морфологическом уровне лучший хондропротективный эффект, чем отдельное введение ОТП [156].

S. Guner и соавт. (2012) моделировали ОА у крыс путем внутрисуставного введения раствора формалина, вызывая, по сути, некроз гиалинового хряща и других тканей сустава. Через 2 недели после курса инъекций ОТП никаких достоверных признаков обратного развития наступивших деструктивных изменений в суставах у животных отмечено не было [134].

Напротив, А. М. Malfait и соавт. (2013) обнаружили через 4 недели репаративное воздействие ОТП на ткани коленного сустава у крыс с экспериментальным ОА, индуцированным внутрисуставным введением хлорйодацетата. При этом авторы наблюдали выраженный хондропротективный эффект, выражающийся в усилении синтеза коллагена II типа и снижении уровня апоптоза хондроцитов. Однако уже через 12 недель достигнутые результаты в значительной степени регрессировали [172].

В экспериментальном исследовании на кроликах Kwon и соавт. (2012) моделировали ОА коленного сустава путем внутрисуставного введения раствора коллагеназы. Положительный эффект последующего применения ОТП был

отмечен на протяжении всего периода заболевания, но более выраженный – на ранних его стадиях [169].

Также известны исследования, проведенные на возрастных лошадях, страдающих ОА коленного сустава. Проведенный курс инъекций ОТП через 2 месяца после его начала имел очевидный положительный клинический результат, однако последний практически полностью регрессировал к 8 месяцам наблюдения [79].

С. I. Serra и соавт. (2013) использовали 7-кратное внутрисуставное введение ОТП при раннем ОА коленного сустава, индуцированном хирургическим повреждением внутреннего мыщелка бедренной кости у крыс. Репаративный ответ на морфологическом уровне становился заметным лишь в случаях небольших повреждений суставной поверхности в сроки до 6 недель после хирургической травмы [107]. Аналогичный эффект отмечали Milano и соавт. (2010) в экспериментальном исследовании на козах уже после одной инъекции ОТП [227].

D. Kazemi и соавт. (2015) выдвинули предположение о влиянии концентрации лейкоцитов в ОТП на результаты лечения повреждений СГХ коленного сустава. Так, для эксперимента авторы отобрали 72 половозрелые собаки, которым хирургическим способом выполнили повреждение СГХ мыщелков бедренной кости диаметром до 6 мм и глубиной до 5 мм. В дальнейшем животные получали внутрисуставные инъекции богатой и бедной лейкоцитами ОТП. Никаких достоверных отличий в макро- и микроскопической картинах спустя 4, 12, 24 недели между препаратами не выявлено, в то же время по сравнению с контрольной группой отмечен хондропротективный эффект у обеих методик [167].

В то же время W. J. Yin и соавт. (2016) считают, что богатая лейкоцитами ОТП не имеет преимуществ перед бедной лейкоцитами ОТП, а, наоборот, является неподходящим способом лечения пациентов с ОА коленного сустава, объясняя это повышенным выделением противовоспалительных цитокинов LPRP, которые, в свою очередь, могут снижать активность факторов роста [70].

Результаты клинических исследований представляются менее противоречивыми, чем экспериментальные работы.

В проспективном рандомизированном исследовании А. Baltzer и соавт. (2009) пациенты были разделены на 3 группы в зависимости от проводимого лечения: ОТП, ГК или физиологический раствор в группе плацебо. Плазму вводили внутрисуставно в объеме 2 мл с кратностью 2 раза в неделю в течение трех недель. Клинический эффект авторы оценивали по шкалам ВАШ и WOMAC (Western Ontario and McMaster Osteoarthritis Index) через 7, 13 и 26 недель. Лучшие показатели по всем шкалам были отмечены у пациентов из группы ОТП [78].

В 2010 г. Е. Коп и соавт. доложили о результатах проспективного исследования по применению ОТП в форме внутрисуставных инъекций у добровольцев с ОА коленного сустава. Пациенты были распределены на 2 клинические группы. Пациентам основной группы в коленный сустав трехкратно вводили 5 мл плазмы каждые 3 недели. Перед введением ОТП активировали 10%-м раствором хлорида кальция. Наблюдение осуществляли в течение 24 месяцев с оценкой результатов по шкалам IKDS и ВАШ. В первые две недели после введения ОТП у большинства пациентов сохранялся болевой синдром, но степень выраженности его стала гораздо меньше. Основные показатели шкалы IKDC возросли с 47 % в начале лечения до 78 % после его окончания, а по прошествии 6 и 12 месяцев – до 73 и 63 % соответственно. После 24 месяцев показатели шкалы IKDC продемонстрировали отрицательную динамику, снизившись до 59 %, но по-прежнему оставались лучше таковых до начала лечения. На основании полученных данных авторы сделали заключение о снижении болевого синдрома и улучшении качества жизни пациентов, лечившихся с помощью ОТП. В ходе внутрисуставной терапии не было выявлено ни одного осложнения на протяжении двух лет наблюдений [194].

Несколько позже Е. Коп и соавт. (2011) сравнили результаты лечения пациентов с ОА коленного сустава с помощью ОТП и ГК. Авторы пришли к выводу о высокой эффективности ОТП в отношении уменьшения болевого

синдрома и улучшения функции сустава в сроки до одного года у пациентов с ранними стадиями ОА. При выраженных стадиях заболевания результаты оказались несколько не лучше, чем после применения ГК. Причем после инъекции ОТП в течение нескольких дней пациентов беспокоил более выраженный болевой синдром, чем после внутрисуставного введения ГК [199].

Клиническое улучшение на период от 6 до 12 месяцев после начала лечения ОТП у 50 пациентов с ОА коленного сустава отмечается в исследовании А. Gobbi и соавт. (2012). Оценку результатов в течение года после двух инъекций с недельной разницей авторы проводили по шкалам ВАШ, IKDC, KOOS, Tegner, Marx [201].

Подобный, но более краткосрочный эффект от внутрисуставного введения ОТП представлен в исследовании Л. Ю. Широковой (2012). Обезболивающее действие ОТП сохранялось в течение первого месяца после введения. Через три месяца достигнутый эффект наблюдался лишь у пациентов с начальными стадиями ОА коленного сустава и продолжался в течение одного года [64].

Результаты, полученные в рандомизированном контролируемом исследовании F. Cerza и соавт. (2012), выглядят более обнадеживающими. В течение 6 месяцев наблюдения за 120 пациентами с ОА авторы не выявили зависимости эффективности 4 инъекций ОТП от стадии заболевания. По сравнению с препаратом ГК ОТП в большей степени уменьшала выраженность болевых ощущений [92].

В рандомизированном контролируемом исследовании, включающем наблюдения за 78 пациентами с ОА, S. Patel и соавт. (2013) не обнаружили достоверных различий в функциональных результатах после 1 или 2 внутрисуставных инъекций ОТП. Однако в обеих клинических группах результаты лечения были лучше, чем в группе с плацебо, но постепенно ухудшались в течение 6 месяцев [237].

Систематический обзор А. Khoshbin и соавт. (2013), объединяющий 4 рандомизированных и 2 нерандомизированных исследования с анализом результатов лечения 577 пациентов в 2 клинических группах, показал

значительное преимущество ОТП перед ГК или физиологическим раствором при введении в сустав пациентам старше 55 лет с дегенеративными изменениями легкой или средней степени выраженности в течение 6 месяцев наблюдения [230].

В рандомизированном плацебо-неконтролируемом исследовании, включающем 160 пациентов с ОА коленного сустава подобный более продолжительный результат S. A. Raeissadat и соавт. (2013) отметили спустя 12 месяцев после проведенного курса внутрисуставных инъекций ОТП, независимо от стадии заболевания [228].

G. Mangone и соавт. (2014) с 2010 по 2013 г. обследовали 72 пациента с начальными проявлениями ОА коленного сустава после 3-кратного внутрисуставного введения ОТП. Достигнутый выраженный обезболивающий эффект достоверно сохранялся в течение 1 года наблюдений [152].

K. L. Paterson и соавт. (2016) провели рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое исследование эффективности ОТП у 37 пациентов с ОА коленного сустава на ранней стадии. Авторы отметили достоверное положительное влияние методики на течение ОА через 12 недель после лечения [160].

Помимо внутрисуставного введения ОТП, существуют работы, описывающие результаты лечения пациентов с гонартрозом и внутрикостным введением ОТП.

M. Sánchez и соавт. (2016) выполнили одну внутрисуставную и 2 внутрикостных инъекции ОТП 19 пациентам с ОА коленного сустава на ранней стадии. В течение 6 месяцев авторы наблюдали выраженное снижение болевого синдрома [96].

Существует мнение о снижении эффективности терапии ОТП пациентов с ОА коленного сустава с увеличением их возраста. Так, С. Bottegoni и соавт. (2016) пролечили 60 пациентов с гонартрозом на ранней стадии в возрасте от 65 до 86 лет. ОТП вводили каждые 14 дней трехкратно. Наблюдая в течение 6 месяцев, авторы отметили значительное снижение болевого синдрома, причем с увеличением возраста пациентов длительность эффекта уменьшалась. В целом же 90 % испытуемых были довольны результатами [141].

На сегодняшний день ОТП показала свою эффективность с лучшей стороны по сравнению с препаратом ГК [202], кортикостероидами, НПВС .

С. J. Meheux и соавт. (2015) в своем систематическом обзоре, объединяющем результаты 6 клинических исследований, включающих 733 пациента с ОА коленного сустава на ранней стадии, отметили достоверное улучшение показателей болевого синдрома и нарушения функции коленного сустава до 12 месяцев, по сравнению с ГК [113]

К аналогичным выводам пришли и А. В. Laudy и соавт. (2015), проанализировав результаты 10 клинических исследований. Авторы пришли к заключению о выраженном положительном влиянии ОТП на купирование болевого синдрома у пациентов с ОА коленного сустава на ранней стадии по сравнению с плацебо и ВСТ в течение 6 месяцев после проведенного курса лечения [115].

J. C. Riboh и соавт. (2016) на основании 6 клинических исследований пришли к выводу об отсутствии достоверных отличий в эффективности богатой и бедной лейкоцитами ОТП, но по сравнению с ГК обе методики продемонстрировали значительно лучшие показатели [109].

Проанализировав результаты клинических исследований применения ОТП и ГК у пациентов с ОА коленного сустава на ранних стадиях с 2000 по 2015 г., Н. N. Sadabad (2016) и соавт. сделали вывод о безоговорочном превосходстве в купировании болевого синдрома и восстановлении функции сустава через 2 года после проведенного лечения ОТП над ГК [116].

Е. Montañez-Heredia и соавт. (2016) убедились в неоспоримой эффективности ОТП над ГК в купировании болевого синдрома и улучшении функции коленного сустава в течение 6 месяцев после проведенного курса лечения у пациентов с ранней стадией гонартроза [161].

По сравнению с глюкокортикостероидами ОТП показала также лучшие и долгосрочные показатели в купировании болевого синдрома и восстановлении функции коленного сустава, о чем свидетельствует КИ В. Forogh и соавт. (2016), включающее 41 пациента с гонартрозом на ранней стадии [111, 207].

W. L. Dai и соавт. (2017) объединили результаты 10 рандомизированных контролируемых исследований, включавших 1 069 пациентов с ОА коленного сустава на ранней стадии, и установили, что внутрисуставное введение ОТП гораздо эффективное снижает болевой синдром по сравнению с ГК в течение 12 месяцев после проведенного лечения [114].

Хорошие результаты лечения 1 499 пациентов с ОА коленного сустава на ранней стадии ОТП по сравнению с глюкокортикостероидами, ГК и плацебо в течение 12 месяцев наблюдения продемонстрировали в своем систематическом обзоре с проведенным метаанализом L. Shen и соавт. (2017) [236].

Проанализируем работы по совместному последовательному применению ОТП с ГК.

Так, S. H. Chen и соавт. (2016) отметили значительное снижение болевого синдрома и улучшение функции коленного сустава у 3 пациентов с гонартрозом тяжелой стадии при лечении объединенной методикой последовательного введения ОТП (3 инъекции), а потом препарата ГК (3 инъекции) спустя 12 недель после начала лечения [95].

J. F. Lana (2016) провели многоцентровое рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое клиническое исследование, включающее 105 пациентов с ОА коленного сустава на ранней стадии, разделенных на три группы, которых лечили ОТП, ГК и последовательным введением сначала ОТП, затем ГК. Наилучшие результаты продемонстрировала объединенная методика [210].

В большинстве известных КИ методика внутрисуставного введения ОТП хорошо переносилась пациентами и демонстрировала высокую приверженность их к лечению [73, 97, 204].

Системные реакции, проявляющиеся в виде повышения температуры тела, общей слабости и т. п. встречались очень редко, не имели серьезных последствий и не наблюдались во время повторных курсов введения ОТП [83, 86, 93, 109, 112-116, 230].

Местные реакции в виде боли или отека коленного сустава наблюдались у 6–7 % пациентов в 2–3 % случаях всех внутрисуставных инъекций. Проявления этих реакций варьировали от незначительных до достаточно выраженных. Все они благополучно разрешались к 3–5-му дню без какого-либо лечения или после назначения короткого курса НПВС, локальной гипотермии, редко – введения кортикостероидных препаратов [36-38, 54, 55, 102, 111-117, 160, 210, 236].

Риск возникновения инфекционных осложнений после внутрисуставного введения ОТП считается невысоким, однако он может зависеть от кратности назначения внутрисуставных введений препарата, которые по определению должны проводиться в строго асептических условиях [204]. ОТП обладает хорошим профилем безопасности и в то же время снижает риск местных и системных осложнений после инъекций других лекарственных препаратов, например глюкокортикостероидов [36-38, 54, 55, 102, 111-117, 160, 210, 236].

В итоге, результаты применения ОТП в лечении пациентов с ОА коленного сустава выглядят обнадеживающими, но в тоже время остается много нерешенных вопросов о предполагаемых механизмах действия методики. Во многом, это обусловлено малым количеством экспериментальных исследований с весьма противоречивыми результатами влияния ОТП на СГХ, в определенной степени обусловленными неспособностью многообразия способов моделирования ОА инициировать все процессы, происходящие при данном заболевании [204]. Помимо этого, практически отсутствуют данные, раскрывающие влияние ОТП на активность металлопротеиназ в СГХ, играющих огромное значение в патогенезе ОА. Клинические исследования, посвященные применению ОТП у пациентов с ОА коленного сустава, свидетельствуют об отсутствии единого стандарта ее приготовления, показаний для применения, дозировки и кратности введения, времени активации тромбоцитов. Также недостаточно изучено значение содержащихся лейкоцитов и эритроцитов в ОТП на течение гонартроза. Крайне мало данных о результатах последовательного

применения ОТП и других препаратов, например, ГК при лечении пациентов с ОА коленного сустава.

Таким образом, использование модели экспериментального ОА коленного сустава, максимально приближенной к человеческой, с дальнейшим изучением гистологической картины СГХ, показателей активности в нем наиболее значимых в патогенезе ОА металлопротеиназ (ММП-1, ММП-13) после монотерапии ОТП, ГК и их последовательного применения, позволило бы расширить представление о предполагаемых механизмах действия методики на течение заболевания, а в дальнейшем использовать полученные данные для коррекции способа получения и введения ОТП в условиях клинического исследования у пациентов с ОА коленного сустава для улучшения положительных результатов лечения и их пролонгированию.

Глава 2.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Дизайн исследования в соответствии с целью и задачами работы включал два этапа:

а) экспериментальный этап, выполненный на животных и включавший моделирование ОА коленного сустава, изучение морфологических изменений и динамики показателей активности ММП–1 и ММП–13 в суставном гиалиновом хряще внутреннего мыщелка бедренной кости после монотерапии ОТП, ГК, а также последовательного применения ОТП и ГК.

б) клинический этап, заключающийся в изучении динамики болевого синдрома, функциональных возможностей коленного сустава и оценке клинических исходов с позиции доказательной медицины после монотерапии ОТП и ГК у пациентов с гонартрозом I-II стадии и монотерапии ОТП у пациентов с гонартрозом III-IV стадии по J. Kellgren, J. Lawrence.

2.1. Общая характеристика экспериментальных групп животных

Экспериментальная часть работы была выполнена в лаборатории кафедры патофизиологии и клинической патофизиологии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России под руководством доктора медицинских наук, профессора Л.Н. Роговой.

В работе был использован дизайн открытого рандомизированного проспективного исследования длительностью 4 месяца. Эксперимент был выполнен на 50 половозрелых крысах линии «Wistar» массой $250 \pm 2,2$ г.

При работе с лабораторными животными соблюдали требования, изложенные в правилах лабораторной практики (GLP), «Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных»

(1985), приказе МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 «Об утверждении правил лабораторной практики», Минздрава СССР № 755 от 12.08.1977.

Лабораторные животные были распределены на 5 групп по 10 животных в каждой, из них 2 опытные и 3 основные (Таблица 1).

Таблица 1

Характеристика экспериментальных групп животных

Группа	Вводимый препарат			
	0,9%-й раствор NaCl	10%-я суспензия стерильного талька	ОТП	ГК
Опытная группа № 1, n = 10	0,5 мл однократно	-	-	-
Опытная группа № 2, n = 10	-	0,5 мл однократно	-	-
Основная группа № 1, n = 10	-	0,5 мл однократно	спустя 30 дней после введения талька – 0,2 мл, затем через 21 день еще 0,2 мл	-
Основная группа № 2, n = 10	-	0,5 мл однократно	-	спустя 30 дней после введения талька – 0,2 мл, через 7 и 14 дней еще по 0,2 мл
Основная группа № 3, n = 10	-	0,5 мл однократно	спустя 30 дней после введения талька – 0,2 мл ОТП, затем через 7 и 14 дней по 0,2 мл ГК	

Животным первой опытной группы проводили однократное внутрисуставное введение 0,5 мл 0,9%-го раствора NaCl. Животным остальных 4 групп моделировали ОА коленного сустава путем однократного внутрисуставного введения 0,5 мл 10%-й суспензии стерильного талька [24]. Все манипуляции были выполнены под общим обезболиванием с использованием препарата «Рометар»[51].

Через 30 дней после моделирования ОА животным первой основной группы проводили двукратное внутрисуставное введение 0,2 мл ОТП с периодичностью 1 раз в 21 день [31, 125]. Животным второй основной группы трехкратно внутрисуставно вводили 0,2 мл ГК (1,6 % гиалуроната натрия со средней молекулярной массой 3600 кДа) с периодичностью 1 раз в 7 дней [31]. Животным третьей основной группы последовательно вводили ОТП и ГК: вначале внутрисуставно 0,2 мл ОТП, а через 7, 14 дней – 0,2 мл ГК [31, 44].

Приготовление ОТП начинали с забора 1,2 мл цельной крови из бедренной вены в шприц с предварительно набранными 0,4 мл 5%-го раствора цитрата натрия [31, 204].

Полученную кровь сливали в герметично закрывающуюся стерильную стеклянную полупрозрачную емкость и помещали в центрифугу «RotoFix 32A» (Hettich, Германия) с соответствующим противовесом (Рисунок 1).



Рисунок 1. Центрифуга «RotoFix 32A» (Hettich, Германия)

Первое центрифугирование проводили в течение 5 мин со скоростью 1 500 об./мин (Рисунок 2а). Затем забирали 0,8 мл надосадочной жидкости, которую помещали в другую аналогичную стерильную емкость и выполняли второе центрифугирование со скоростью 1 000 об./мин в течение 5 мин (Рисунок 2б). Далее удаляли 0,6 мл надосадочной жидкости и разбавляли выпавшие в осадок форменные элементы в оставшейся плазме путем

встряхивания пробирки с добавлением 0,1 мл 10%-го раствора хлорида кальция с целью активации тромбоцитов (Рисунок 2в). ОТП извлекали с помощью шприца.

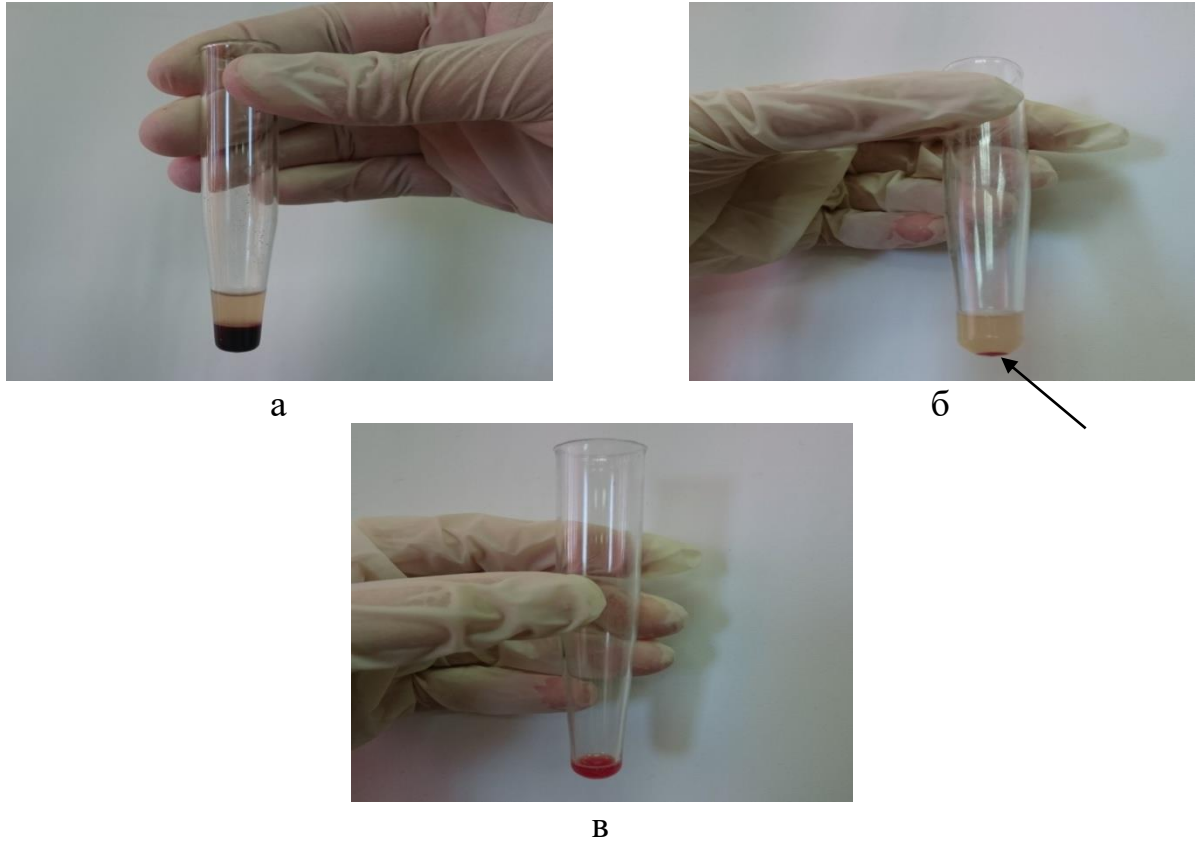


Рисунок 2. Получение ОТП:

- а – разделение цельной крови на фракции после первого центрифугирования;
- б – после второго центрифугирования тромбоциты оседают на дно пробирки (стрелка);
- в – готовая к применению ОТП в количестве 0,2 мл

Все внутрисуставные инъекции осуществляли в асептических условиях из передневнутреннего доступа в левый коленный сустав.

2.2. Методы исследования животных в эксперименте

Обследование животных выполняли до и после моделирования экспериментального остеоартроза в течение одного месяца после проведения манипуляций. Обследовано 50 крыс (50 случаев).

Проводили внешний осмотр животного и морфологические методы исследования. После выполнения манипуляции в течение одного месяца проводили ежедневный осмотр животных, наблюдали за зонами введения препаратов, выполняли обработку операционных ран, через 7 дней снимали швы.

Через месяц после проведения последней внутрисуставной инъекции препаратов животных выводили из эксперимента путем введения летальной дозы Рометара, вычленили левую бедренную кость для последующего морфологического исследования.

Полученные в ходе аутопсии препараты, включающие хрящевую ткань и субхондральную кость, фиксировали в 10%-м растворе нейтрального забуференного формалина (pH 7,4) в течение 24 часов [128]. Затем проводили бескислотную декальцинацию в растворе этилендиаминтетраацетата натрия стандартной концентрации. После полного удаления из костной ткани минерального компонента выполняли стандартную гистологическую проводку по спиртам возрастающих концентраций, препараты заключали в парафин, после чего изготавливали срезы толщиной 6–8 микрон, окрашивали гематоксилином и эозином, по Маллори.

Для выявления экспрессии матриксных металлопротеиназ использовали первичные поликлональные антитела к ММП-1 (ABclonal, Китай) и ММП-13 (Almabion, Россия).

Иммуногистохимическое исследование проводили в соответствии с протоколами фирм-производителей антител с использованием систем детекции «UltraVision» (LabVision, Великобритания) и хромогена диаминобензидина, используя протокол высокотемпературной демаскировки антигенов в миниавтоклаве «Pascal» (DakoCytomation, Дания) [20,36]. Достоверность полученных результатов контролировали с помощью позитивных и негативных контролей антигенов, а также негативных контролей антител.

Характер иммуногистохимической реакции оценивали визуально в баллах с учетом интенсивности окраски и определением удельного количества позитивно

окрашенных клеток стандартизированными методами морфометрии с помощью системы анализа изображений (Рисунок 3) [15, 27, 36, 45, 206].

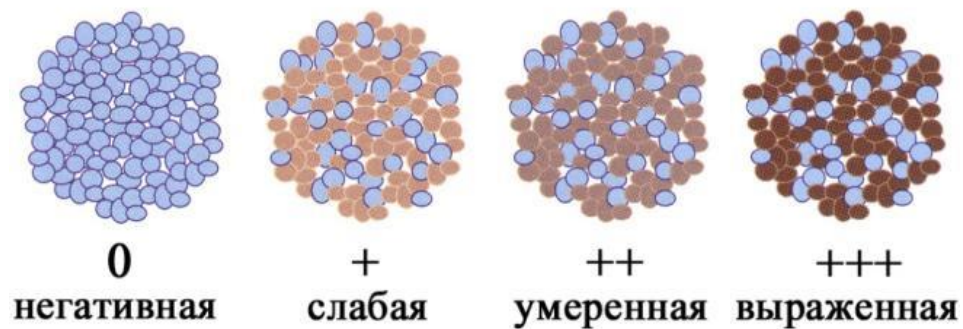


Рисунок 3. Визуально-аналоговая шкала для оценки интенсивности иммуногистохимической реакции по D. C. Allred и соавт. (1998)

Фотопротоколирование микроскопических изменений производили с использованием комплекса, включающего микроскоп «Axio Scope» (Carl Zeiss, Германия) и цифровую фотокамеру «Power Shot» (Canon, Япония). Морфометрический анализ проводили с помощью компьютерной программы «Видеотест-Морфо-4» (Россия). Для оценки морфологических показателей определяли толщину суставного хряща (L, мкм) и объемную долю хондроцитов по отношению к матриксу (ОД, %).

2.3. Общая характеристика клинических групп пациентов с остеоартрозом коленного сустава I–II стадии

Представленная часть клинического исследования основана на анализе результатов лечения 60 пациентов с ОА коленного сустава, наблюдавшихся в травматолого-ортопедическом отделении ГУЗ КБ № 12 Волгограда и хирургическом отделении госпиталя ФКУЗ «МСЧ МВД России по Волгоградской области» за период с 2012 по 2016 г.

В работе использовали дизайн простого открытого рандомизированного проспективного исследования длительностью 12 месяцев.

В исследование были включены пациенты мужского и женского пола в возрасте 30 лет и старше, страдавших одно- или двусторонним ОА коленного сустава и удовлетворявших диагностическим критериям ОА Американской коллегии ревматологов [72, 191]. При проведении клинических исследований были соблюдены требования Хельсинской декларации 1975 г., пересмотренной в 2008 г., и разрешения этического комитета ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России от 2013 г. на проведение исследования «Аутологичная обогащенная тромбоцитами плазма в лечении пациентов с остеоартрозом коленного сустава (клинико-экспериментальное исследование)».

Пациенты, удовлетворявшие критериям включения в исследование, прочитав информационный листок пациента (Приложение 1), и согласившиеся на участие в исследовании, подписывали соглашение об информированном согласии, соответствующее требованиям Основ законодательства № 323-ФЗ от 21 ноября 2011 г. «Об охране здоровья граждан» и федеральному закону № 86-ФЗ от 22 июня 1998 г. «О лекарственных средствах» (Приложение 2).

Для унификации исследования на начальном этапе работы была разработана Карта обследования больного, которая включала персональные данные, данные анамнеза, диагноз, стадию заболевания по рентгенологической классификации J. Kellgren, J. Lawrence (1957). В карту заносили также данные осмотра пациентов, оценку боли в суставах по визуальной аналоговой шкале боли (ВАШ), по шкале вербальной оценки эффективности лечения (ВШОЭЛ), по функциональному индексу Лекена (Приложение 3).

К критериям включения в исследование относили диагностированный ОА коленного сустава I-II стадии по J. Kellgren, J. Lawrence с выраженным болевым синдромом (более 30 баллов по ВАШ) и недостаточную эффективность проведенного ранее лечения. К критериям исключения были отнесены: вторичный гонартроз различной этиологии, полиостеоартроз, невыраженный болевой синдром (боль при ходьбе – менее 30 баллов по ВАШ), возраст пациентов моложе 30 лет, наличие заболеваний крови, вирусного гепатита В и С,

ВИЧ-инфекции, сопутствующей патологии внутренних органов в стадии декомпенсации, неопластических процессов, системных и острых воспалительных заболеваний, прием пациентами антикоагулянтов, указание на внутрисуставное введение кортикостероидов в течение последних 6 месяцев (Таблица 2).

Таблица 2

**Критерии включения/исключения в исследование пациентов
с ОА коленного сустава I–II стадии**

Критерии включения	Критерии исключения
Возраст: 30 лет и старше. Стадии артроза по J. Kellgren, J. Lawrence – I-II. Выраженный болевой синдром (30 баллов и более по ВАШ). Отсутствие эффекта или недостаточная эффективность ранее проведенного комплексного консервативного лечения	Возраст: моложе 30 лет. Стадия артроза по J. Kellgren, J. Lawrence – III-IV. Полиостеоартроз. Заболевания крови, вирусный гепатит В, С, ВИЧ-инфекция. Внутрисуставное введение кортикостероидов в течение последних 6 мес. Прием антикоагулянтов. Поражение кожи вокруг сустава. Интеркуррентные заболевания в стадии декомпенсации

Среднестатистический профиль пациентов с ранним ОА, включенных в исследование, выглядел следующим образом: женщина в возрасте $47,00 \pm 3,64$ года с индексом массы тела $28,50 \pm 0,92$, страдающая первичным двусторонним гонартрозом II стадии в течение $2,00 \pm 0,36$ года, демонстрирующая недостаточную эффективность ранее проведенного лечения одним из препаратов группы НПВС и низкую приверженность к длительному лечению.

Все пациенты были разделены по случайному принципу на две клинические группы, сравнимые между собой по основным физиологическим и клиническим параметрам (возраст, пол, индекс массы тела, продолжительность заболевания, индекс массы тела, показателям ВАШ, функционального индекса Лекена), ($p < 0,05$), (Таблица 3).

Характеристика пациентов с гонартрозом I–II стадия по J. Kellgren, J. Lawrence основной группы и группы сравнения

Показатели	Основная группа	Группа сравнения
Количество пациентов, чел.	30	30
Пол, чел.	14♂, 16♀	10♂, 20♀
Возраст, лет	$49,3 \pm 10,97$	$44,46 \pm 8,87$
Продолжительность заболевания, лет	$2,84 \pm 0,89$	$2,5 \pm 0,61$
Индекс массы тела, кг	$29,13 \pm 2,68$	$27,77 \pm 2,34$
ВАШ, баллы	$50,76 \pm 5,22$	$47,6 \pm 5,99$
Функциональный индекс Лекена, баллы	$10,66 \pm 1,61$	$9,9 \pm 1,6$

Внутрисуставные инъекции осуществляли в условиях перевязочной с соблюдением всех правил асептики и антисептики с использованием передневнутреннего или передненаружного доступа, которые топографически соответствовали расположению одноименных передних артроскопических порталов (Рисунки 4а и 4б).



а



б

Рисунок 4. Введение ОТП в коленный сустав:

а – передневнутренний и передненаружный доступы для внутрисуставных инъекций (схема); б – введение ОТП из передненаружного доступа

Во время выполнения инъекции и продвижения иглы в полость сустава обезболивали кожу и мягкие ткани, используя раствор анестетика (1%-й раствор новокаина, 2%-й раствор лидокаина). Легкое ощущение провала иглы и вытекание из неё после отделения шприца капель СЖ свидетельствовали о корректном расположении и возможности внутрисуставного введения.

Пациентам основной группы ОТП вводили трехкратно по 2 мл с частотой 1 раз в 3 недели.

Пациентам из группы сравнения аналогичным образом трехкратно вводили по 2 мл препарата ГК с частотой 1 раз в неделю.

После выполнения внутрисуставной инъекции на несколько часов накладывали асептическую повязку, а пациентам рекомендовали в течение 3–5 дней несколько уменьшить нагрузку на коленный сустав.

После проведенного курса лечения пациентов наблюдали в течение 12 месяцев с повторными осмотрами через 1, 3, 6, 12 месяцев.

2.4. Общая характеристика клинических групп пациентов с остеоартрозом коленного сустава III-IV стадии

Представленная часть клинического исследования основана на анализе результатов лечения 102 пациентов с ОА коленного сустава, наблюдавшихся в травматолого-ортопедическом отделении ГУЗ КБ № 12 Волгограда и хирургическом отделении госпиталя ФКУЗ «МСЧ МВД России по Волгоградской области» за период с 2012 по 2014 г.

В работе был использован дизайн простого открытого рандомизированного проспективного исследования длительностью 9 недель.

В исследование были включены пациенты мужского и женского пола в возрасте 50 лет и старше, страдавших ОА коленного сустава и удовлетворявших диагностическим критериям ОА Американской коллегии ревматологов [72, 191].

К критериям включения в исследование относили диагностированный ОА коленного сустава III-IV стадии по J. Kellgren и J. Lawrence (1957) с выраженным болевым синдромом (более 40 баллов по ВАШ) и недостаточную эффективность проведенного ранее лечения (Таблица 4).

Таблица 4

**Критерии включения/исключения в исследование пациентов
с остеоартрозом коленного сустава III-IV стадии**

Критерии включения	Критерии исключения
Возраст: 50 лет и старше. Стадия артроза по J. Kellgren, J. Lawrence – III–IV. Выраженный болевой синдром (40 баллов и более по ВАШ). Отсутствие эффекта или недостаточная эффективность ранее проведенного комплексного консервативного лечения	Возраст: моложе 50 лет. Стадия артроза по J. Kellgren, J. Lawrence – I–II. Полиостеоартроз. Заболевания крови, вирусные гепатиты В, С, ВИЧ-инфекция. Внутрисуставное введение кортикостероидов в течение последних 6 мес. Прием антикоагулянтов. Поражение кожи вокруг сустава. Интеркуррентные заболевания в стадии декомпенсации

Критерии исключения были следующие: вторичный гонартроз различной этиологии, полиостеоартроз, невыраженный болевой синдром (боль при ходьбе – менее 40 баллов по ВАШ), возраст пациентов моложе 50 лет, наличие заболеваний крови, вирусного гепатита В и С, ВИЧ-инфекции, сопутствующей патологии внутренних органов в стадии декомпенсации, неопластических процессов, системных и острых воспалительных заболеваний, прием пациентами антикоагулянтов, указание на внутрисуставное введение кортикостероидов в течение последних 6 месяцев.

Клиническое исследование с участием 102 пациентов с III-IV стадией ОА коленного сустава проводили с соблюдением всех требований

законодательства, которые были указаны для пациентов с I и II стадиями заболевания в параграфе 2.3.

Все пациенты были разделены по случайному принципу на две клинические группы, сравнимые между собой по основным физиологическим и клиническим параметрам (возраст, пол, индекс массы тела, продолжительность заболевания, индекс массы тела, показателям ВАШ, функционального индекса Лекена), ($p < 0,05$), (Таблица 5).

Таблица 5

Характеристика пациентов с гонартрозом III-IV стадия по J. Kellgren, J. Lawrence основной группы и группы сравнения

Показатели	Основная группа	Группа сравнения
Количество пациентов, чел.	51	51
Пол, чел.	7♂, 44♀	6♂, 45♀
Возраст, лет	65 ± 2	65 ± 2
Продолжительность заболевания, лет	$11,3 \pm 2,1$	$10,6 \pm 2,8$
Индекс массы тела, кг	$32,27 \pm 3,02$	$31,12 \pm 3,04$
ВАШ, баллы	$67,21 \pm 2,74$	$65,64 \pm 3,49$
Функциональный индекс Лекена, баллы	$13,35 \pm 0,6$	$13,50 \pm 0,41$

Среднестатистический профиль пациентов с поздним ОА, включенных в исследование, выглядел следующим образом: женщина в возрасте 65 ± 2 года с индексом массы тела выше 30, страдающая первичным двусторонним гонартрозом III стадии более 10 лет, устойчивая к обезболивающим препаратам, с низкой приверженностью к длительному лечению, с многочисленными сопутствующими заболеваниями органов и систем.

Внутрисуставные инъекции ОТП пациентам основной группы осуществляли в условиях перевязочной с соблюдением всех правил асептики и

антисептики, и использованием техники, описанной в параграфе 2.3. ОТП вводили трехкратно по 2 мл с частотой 1 раз в 3 недели.

Пациентам из группы сравнения назначали лечение НПВС («Нимесулид» – 100 мг по 1–2 таблетки по требованию, «Матарен-плюс» – местно, втирание 2–3 раза в день), включенных на сегодняшний день в «золотой стандарт» лечения ОА коленного сустава на разных стадиях. В отличие от ГК в отношении НПВС существует широкий спектр клинических исследований с высоким уровнем доказательности, подтверждающих их эффективность. НПВС легко доступны, в том числе и по цене, применимы, но нуждаются в постоянном приеме пациентом, что не всегда возможно ввиду сопутствующей патологии, например, язвенная болезнь желудка. А в случае подготовки пациента к оперативному вмешательству в объеме эндопротезирования коленного сустава, желательно ограничить их прием для снижения уровня интраоперационной кровопотери, вследствие коагулопатии на фоне длительного приема НПВС. Положительные и отрицательные стороны препаратов этой группы определили их выбор для пациентов из группы сравнения.

После проведенного курса лечения пациентов наблюдали в течение 9 недель с повторными осмотрами через 3, 6 и 9 недель. Выбранные сроки наблюдения из-за менее продолжительного по времени результата по сравнению с пациентам с ОА коленного сустава I-II стадии позволили детальнее изучить эффективность монотерапии ОТП у пациентов с поздними стадиями ОА коленного сустава.

2.5. Методы обследования пациентов

Всем пациентам, поступившим в стационар, проводили клиническое, инструментальное и лабораторное обследование.

Клиническое обследование включало оценку общего состояния; сбор и анализ жалоб, анамнеза; общий осмотр пациента; физикальное обследование коленного сустава, включающее внешний осмотр, пальпацию, проверку

симптомов и тестов, отражающих повреждение внутренних структур, исследование функции.

Во время сбора жалоб уточняли у пациентов наличие боли, отека мягких тканей коленного сустава, звуковых проявлений (хруст, щелчки), нарушения функции опоры и ходьбы.

Во время сбора анамнеза у пациентов выясняли продолжительность заболевания и время возникновения первых симптомов; полученные травмы; проводимое ранее лечение, в том числе, манипуляции и операции на коленном суставе. Уточняли у пациента данные, позволяющие заподозрить системные заболевания, как ревматоидный артрит, болезнь Рейтера, болезнь Бехтерева, подагра, псевдоподагра, инфекционный артрит, псориаз и др.

В завершении сбора анамнеза изучали документы по проводимому ранее лечению и предыдущим исследованиям.

Следующим этапом проводился осмотр пациента. При ходьбе и в положении стоя оценивали походку, опороспособность нижней конечности с коленным суставом, пораженным ОА. Выявляли вид ее деформации (вальгусная или варусная). Измеряли относительную длину нижних конечностей по общепринятой методике, определяли пульсацию магистральных артерий и нарушение чувствительности.

Затем оценивали внешний вид коленного сустава, пораженного ОА, и приступали к его дальнейшему изучению. Определяли цвет кожи, суставные контуры, изменения их в результате около- или внутрисуставного отека, костную деформацию, наличие локализованных припухлостей (киста, воспаленная слизистая сумка, экзостоз).

Проводили сравнительное измерение окружности бедра сантиметровой лентой на 10–15 см выше суставной щели коленного сустава, окружности голени – на 10–15 см ниже ее. Полученные результаты сравнивались со здоровой конечностью и позволяли визуально определить степень гипотрофии мышц бедра, в особенности *m. vastus medialis*. Умеренной гипотрофией считали различие окружностей в 1–3 см, а выраженной гипотрофией – различие более 3 см.

В результате пальпации выявляли околоуставной отек, болевые зоны, костные и костно-хрящевые разрастания, утолщения капсулы, повышение местной температуры кожных покровов, свободные внутрисуставные тела.

С помощью угломера изучали сгибательно-разгибательные движения конечности пациента, используя метод нейтрального нулевого положения [21,22]. Также для оценки функций коленного сустава изучали другие активные и пассивные движения: наружновнутренняя ротация, отведение – приведение голени, тестирование внутренних структур коленного сустава: абдукционный и аддукционный тесты, тест Lachman, переднего и заднего выдвижного ящика, симптом Байкова, Перельмана).

Лабораторное обследование включало клинические анализы крови и мочи.

Инструментальное обследование заключалось в проведении рентгенографии.

Все 162 пациента обозначенных серий КИ проходили рентгенографию коленных суставов на аппаратах «РУМ-20» (Россия), «Serigraf CF» (Siemens, Германия) в переднезадней (стандартной) и боковой проекциях (с физиологической нагрузкой в ортопозиции каждой конечности по Rosenberg и без нагрузки).

Результаты рентгенограмм оценивали по четырем стадиям деструктивно-дистрофических изменений (классификация J. Kellgren, J. Lawrence 1957 г.) по степени выраженности сужения рентгенологической суставной щели, субхондрального склероза и величины краевых костных разрастаний [77]:

– I стадия ОА – на рентгенограмме не выявлено существенных отклонений от нормы или они сомнительны;

– II стадия ОА – на рентгенограмме отмечают незначительное сужение суставной щели, единичные остеофиты вокруг мыщелков бедренной и большеберцовой кости в области межмыщелкового возвышения, которое по этой причине увеличивается и заостряется (Рисунок 5а); – III стадия ОА – отмечают умеренно выраженные рентгенологические признаки заболевания. На рисунке 5б в одном из отделов наблюдается сужение рентгенологической суставной щели

менее чем на 50 %, или она составляет около 2–4 мм, тогда как нормальная высота сохраняется в контралатеральном отделе.

- III стадия характеризовалась также краевыми костными разрастаниями, субхондральным склерозом, в большей степени выраженным в отделе сустава, с очевидными изменениями величины суставной щели, слегка уплощенным межмыщелковым возвышением.

– IV стадия ОА – выраженные рентгенологические изменения: сужение суставной щели более чем на 50 % в одном или нескольких отделах сустава, или по высоте – менее 2 мм; часто полное соприкосновение суставных концов костей; смежные отделы эпифизов склерозированы; значительные краевые костные разрастания; уплощение мыщелков бедренной кости и углубление мыщелков большеберцовой кости (Рисунок 5в).

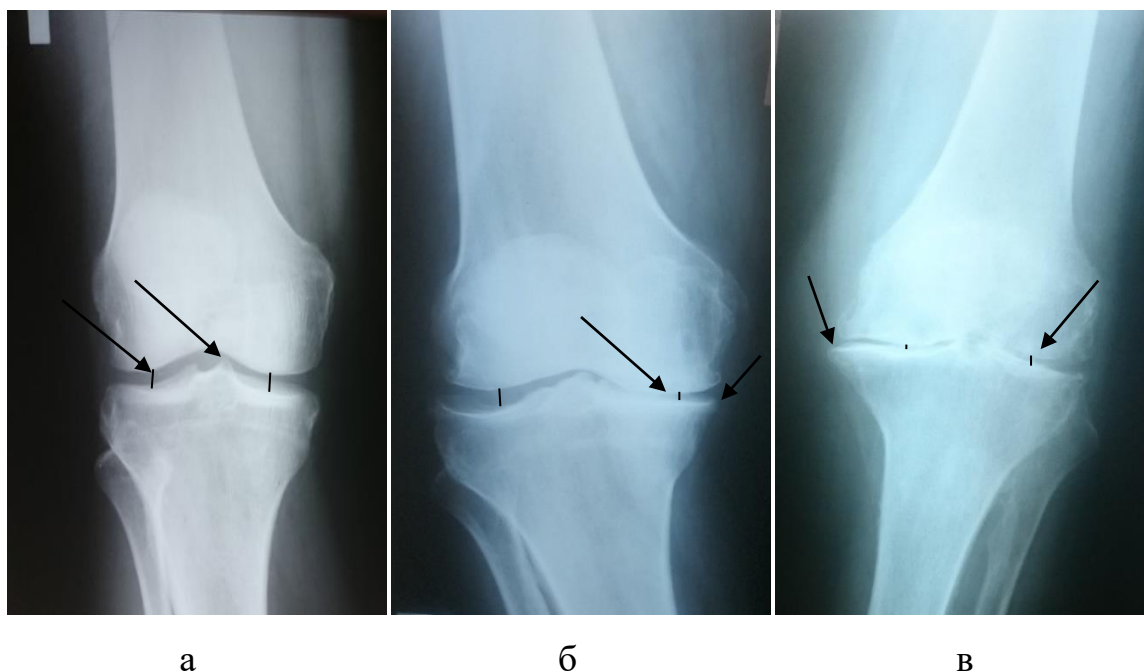


Рисунок 5. Рентгенограммы в прямой проекции коленных суставов пациентов со II (а), III (б) и IV (в) стадиями ОА по J. Kellgren, J. Lawrence (стрелками отмечены сужение суставной щели и остеофиты)

Общепринятыми и состоящими из клинической и клинико-инструментальной части в исследовании считали критерии R. D. Altman и соавт.

(1995), предложенные Американской коллегией ревматологов (ACR). На их основе и с опорой на вышеуказанные данные инструментальных методов исследования проводили диагностику ОА коленного сустава, что было особенно важно при ранних стадиях заболевания и при исключении других патологических состояний [72, 191].

В дизайн настоящего исследования были включены такие показатели и категории их оценки, как боль и здоровье. Для оценки болевого синдрома у пациентов обеих групп была использована ВАШ [246], которая представляла собой вертикальную или горизонтальную прямую длиной 100 мм, где «0» означал 0 баллов и отсутствие боли, а «100» – 100 баллов и максимально выраженную боль. Поскольку боль являлась субъективным симптомом, её выраженность на соответствующей шкале пациенты отмечали сами.

Для оценки здоровья пациентов с ОА коленного сустава в исследовании был использован альгофункциональный индекс Лекена [170], рекомендованный EULAR (European League Against Rheumatism) в качестве критерия эффективности при проведении клинических исследований. Альгофункциональный индекс Лекена представлял собой вопросник для самостоятельного заполнения пациентом, в котором вопросы были разделены на три группы – боль или дискомфорт, максимальная дистанция ходьбы и повседневная активность.

С помощью вышеуказанных оценочных шкал документировали полученные результаты лечения пациентов основной группы и группы сравнения в разные сроки после его проведения (через 1, 3, 6 и 12 месяцев для групп пациентов с ОА коленного сустава I–II стадии и через 3, 6, 9 недель для пациентов с ОА коленного сустава III–IV стадии) (Приложение 3).

Кроме этого респондентов опрашивали по шкале вербальной оценки эффективности лечения (ВШОЭЛ), которая заключала в себе следующие варианты ответов: нет эффекта, слабый эффект, удовлетворительный эффект, хороший эффект, отличный эффект [19].

2.6. Методы статистического анализа и доказательной медицины

Результаты клинических исследований обрабатывали методами базисного статистического анализа на персональном компьютере с использованием программ «Excel Microsoft Office 2 (Microsoft, США) и «STATISTICA 6.0» (Stat Soft Inc., США).

Анализ параметров при нормальном распределении значений проводили с помощью критерия Стьюдента, рассчитываемого по формуле:

$$t = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}}$$

где:

M_1 - средняя арифметическая основной группы,

M_2 - средняя арифметическая группы сравнения,

m_1 - средняя ошибка средней арифметической основной группы,

m_2 - средняя ошибка средней арифметической группы сравнения.

Используя t-критерий Стьюдента, оценивали степень расхождения средних арифметических M_1 и M_2 , относительно дисперсии σ^2 . Полученное значение сравнивали с табличным значением t-критерия Стьюдента при уровне значимости $p = 0,05$ и числе степеней свободы:

$$f = (n_1 + n_2) - 2$$

где, n_1 и n_2 ,количество исследуемых в каждой группе.

При условии, что полученное значение t-критерия Стьюдента было больше критического табличного, различие сравниваемых величин признавали статистически значимым.

Анализ непараметрических количественных признаков производили с помощью критерия Манна-Уитни, позволяющий определить, достаточно ли мала зона перекрещивающихся значений между двумя вариационными рядами (ранжированным рядом значений параметра в первой выборке и таким же во второй выборке).

U-критерий Манна-Уитни рассчитывали по формуле:

$$U = n_1 * n_2 + \frac{n_x * (n_x + 1)}{2} - T_x$$

где:

n_1 - количество элементов в первой выборке,

n_2 - количество элементов во второй выборке,

T_x - большая из двух ранговых сумм,

n_x - количество элементов в группе с большей суммой рангов.

Полученное значение U-критерия сравнивали по таблице для избранного уровня статистической значимости ($p = 0,05$) с критическим значением U при заданной численности сопоставляемых выборок. В случае, когда значение U было меньше табличного, различия между уровнями признаками в рассматриваемых выборках признавали статистически значимой.

Для сравнения качественных признаков использовали критерии Пирсона χ^2 , ввиду чего в таблицах взаимной сопряженности наряду с эмпирическими частотами были определены теоретические частоты, рассчитываемые исходя из нулевой гипотезы.

Нулевая гипотеза - гипотеза о том, что распределение в таблице взаимной сопряженности случайно, и, следовательно, зависимость между признаками отсутствует.

Критерий Пирсона χ^2 рассчитывали по формуле:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^c \frac{(O_{ij} - E_{ij})^2}{E_{ij}}$$

где:

i - номер строки (от 1 до r),

j - номер столбца (от 1 до c),

O_{ij} - фактическое количество наблюдений в ячейке ij ,

E_{ij} - ожидаемое количество наблюдений в ячейке ij .

Расчетное значение сравнивали с его критическим (табличным) показателем при числе степеней свободы:

$$f = (r - 1) * (c - 1)$$

Если полученное значение критерия χ^2 было больше критического, тогда делали заключение о статистической взаимосвязи между изучаемыми показателями при соответствующем уровне значимости p .

Внутрисуставное введение ОТП пациентам с ОА коленного сустава, как и любой новый метод лечения, должен был быть подвержен тщательной проверке с позиции доказательной медицины. Анализ клинических исходов применения методики, в сравнении с общеизвестными и зарекомендовавшими себя способами, – ключ к созданию объективного взгляда о преимуществах и недостатках лечения ОТП.

Результат внутрисуставного введения ОТП у пациентов с гонартрозом на разных стадиях в первую очередь определялся ее воздействием на болевой синдром, значительно снижающий функциональные возможности сустава. Визуально-аналоговая шкала боли и шкала Лекена позволяла с разных сторон оценить выраженность болевого синдрома в разные периоды наблюдения. Объективное отражение боли посредством специальных шкал позволяло оценить клинический исход заболевания. В нашем случае благоприятный исход – это улучшение течения заболевания, а именно снижение выраженности боли, что позволяет, в свою очередь, увеличить функциональные возможности сустава.

Клинический исход объективно возможно оценить по шкале Лекена. В отличие от ВАШ и ВШОЭЛ, шкала Лекена посредством суммирования баллов, полученных после ответов на вопросы, позволяла измерить выраженность боли с разных сторон, учитывая снижение функциональных возможностей сустава.

После стабилизации показателей оценочных шкал мы приступали к анализу клинических исходов заболевания с позиции доказательной медицины [23]. Первоначально составленные ранжированные вариационные ряды, состоящие из показателей шкалы Лекена, были разбиты по группам, согласно общепринятой

градации:слабая боль – 1–4 балла; средняя боль – 5–7 баллов; выраженная боль – 8–10 баллов;значительно выраженная боль – 11–12 баллов; резко выраженная боль >12 баллов.

За благоприятный исход принимали результат лечения пациентов, сопровождавшийся улучшением исходных показателей шкалы Лекена через группу и выше на момент стабилизации показателей шкалы Лекена. В случае если значения располагались в той же или рядом расположенной группе по отношению к исходному уровню, то такой исход считали неблагоприятным.

Неблагоприятные исходы оценивали с помощью следующих показателей:

- снижение относительного риска – относительное уменьшение частоты неблагоприятных исходов по сравнению с контрольной группой, рассчитываемое как частота исходов в группе лечения по формуле: частота исходов в контрольной группе / частоту исходов в контрольной группе;
- ЧБНЛ – число больных, которых необходимо лечить определенным методом в течение определенного времени, чтобы предотвратить неблагоприятный исход у одного больного, определяли по формуле: 1/снижение абсолютного риска.

Благоприятные исходы оценивали с помощью показателей:

- повышение относительной пользы – относительное увеличение частоты благоприятных исходов в группе лечения по сравнению с контрольной группой, рассчитываемое как частота исходов в группе лечения по формуле: частота исходов в контрольной группе / частоту исходов в контрольной группе;
- ЧБНЛ – число больных, которых необходимо лечить определенным методом в течение определенного времени, чтобы достичь определенного благоприятного эффекта у одного больного, рассчитываемое по формуле: 1/ПАП.

Для сравнения вероятностей наступления благоприятного исхода в основной группе и группе сравнения пациентов с гонартрозом I–II и III–IV стадии рассчитывали параметр «Отношение шансов».

Глава 3.

РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

На первом этапе работы были выполнены экспериментальные исследования, заключающиеся в моделировании остеоартроза коленного сустава у крыс линии «Wistar», изучении морфологических изменений и динамики показателей активности ММП-1 и ММП-13 в суставном гиалиновом хряще внутреннего мыщелка бедренной кости после монотерапии ОТП, ГК, а также последовательного применения ОТП и ГК.

3.1. Сравнительная характеристика результатов лечения животных в экспериментальных группах

Общие морфометрические параметры суставного гиалинового хряща у животных экспериментальных групп спустя 1 месяц после проведения манипуляций представлены в Таблице 6.

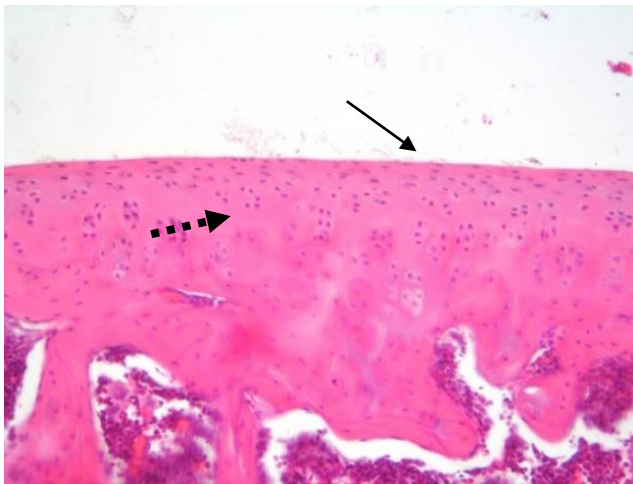
Таблица 6

Морфометрические параметры суставного гиалинового хряща у животных экспериментальных групп спустя 1 месяц после проведения манипуляций

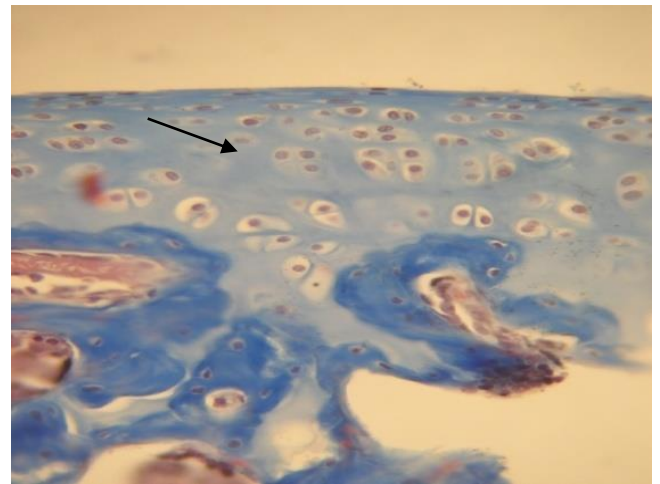
Экспериментальная группа	Параметры суставного гиалинового хряща	
	Толщина, мкм.	Объемная доля хондроцитов, %.
Опытная группа № 1	330,0 ± 17,3	13,7 ± 1,1
Опытная группа № 2	121,0 ± 20,4*	1,2 ± 0,6*
Основная группа № 1	275,0 ± 18,9**	18,4 ± 2,0**
Основная группа № 2	264,0 ± 21,3**	11,6 ± 1,2**
Основная группа № 3	268,0 ± 15,3**	12,7 ± 0,9**

Примечание. Значимость различий ($p < 0,05$) при сравнении показателей: * – по отношению к опытной группе № 1; ** – по отношению к опытной группе № 2.

Проведенное исследование показало, что в опытной группе № 1 животных через 1 месяц после введения в сустав 0,5 мл физиологического раствора СГХ внутреннего мыщелка бедренной кости имел толщину $330,0 \pm 17,3$ мкм и характерное гистологическое строение. Объёмная доля хондроцитов в нем составляла $13,7 \pm 1,1$ %. Поверхностные хондроциты характеризовались уплощённой формой и располагались поодиночке в хрящевом матриксе. Хондроциты переходной и базальной зон имели округлую форму и располагались в составе изогенных групп рядами, ориентированными перпендикулярно к суставной поверхности. Морфологические признаки деструктивно-дистрофических процессов в этой группе животных не выявляли. (Рисунок 6а). Гистиохимическая реакция по Маллори обнаруживала равномерное расположение коллагеновых волокон, отсутствие очагов оссификации (Рисунок 6б).



а



б

Рисунок 6. Морфологическая картина СГХ у крыс через 1 месяц после введения в левый коленный сустав 0,5 мл физиологического раствора (опытная группа № 1):

а – поверхностные хондроциты уплощенной формы, расположенные поодиночке в хрящевом матриксе (пунктирная стрелка); хондроциты переходной и базальной зон округлой формы в составе изогенных групп (стрелка); окраска: гематоксилин и эозин; увеличение $\times 200$; б – равномерное расположение коллагеновых волокон (стрелка); окраска по Маллори; увеличение $\times 400$

Данные по удельному числу иммунопозитивных хондроцитов и интенсивности экспрессии MMP-1 и MMP-13 хондроцитов суставного хряща спустя 1 месяц после проведения манипуляций представлены в Таблице 7.

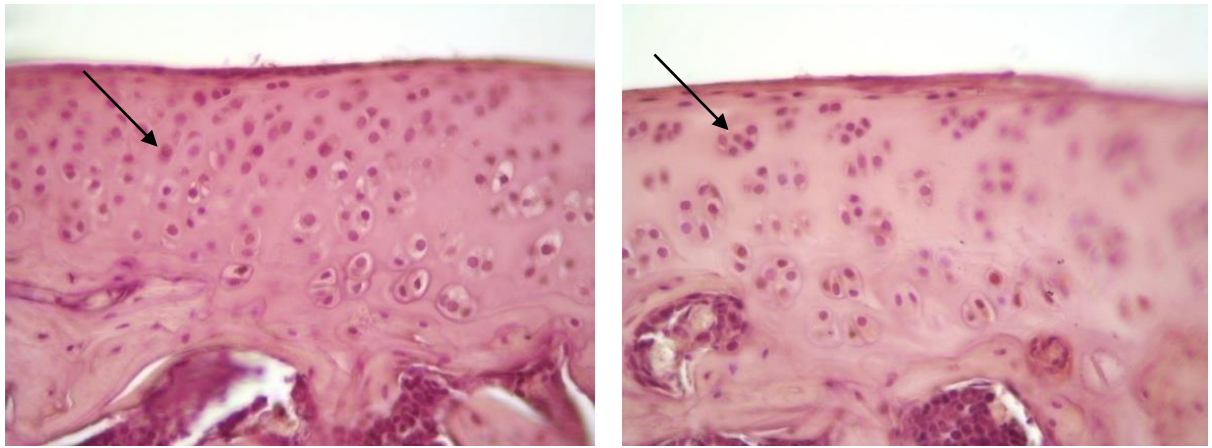
Таблица 7

Удельное число иммунопозитивных хондроцитов и интенсивность экспрессии MMP-1 и MMP-13 хондроцитов суставного хряща спустя 1 месяц после проведения манипуляций

Экспериментальная группа	Первичные антитела			
	ММП – 1		ММП – 13	
	Удельное число (%)	Интенсивность экспрессии	Удельное число (%)	Интенсивность экспрессии
Опытная группа № 1	$38,0 \pm 2,1$	+	$36,0 \pm 4,2$	+
Опытная группа № 2	$73,0 \pm 3,2^*$	+++*	$95,0 \pm 2,1^*$	+++*
Основная группа № 1	$82,0 \pm 2,7^{**}$	+++*	$97,0 \pm 1,9^{**}$	+++**
Основная группа № 2	$42,0 \pm 4,0^{**}$	+**	$98,0 \pm 3,4^{**}$	+++**
Основная группа № 3	$94,0 \pm 4,5^{**}$	+++*	$98,0 \pm 1,0^{**}$	+++**

Примечание. Значимость различий ($p < 0,05$) при сравнении показателей: * – по отношению к опытной группе № 1; ** – по отношению к опытной группе № 2.

При проведении иммуногистохимического исследования удельное число хондроцитов, экспрессирующих ММП-1, составило $38 \pm 2,1$ % (Рисунок 7а), а ММП-13 – $36 \pm 4,2$ % (Рисунок 7б) на фоне минимальной интенсивности экспрессии изучаемых металлопротеиназ), что соответствовало малой скорости обновления компонентов матрикса в гиалиновом хряще при физиологическом ремоделировании.



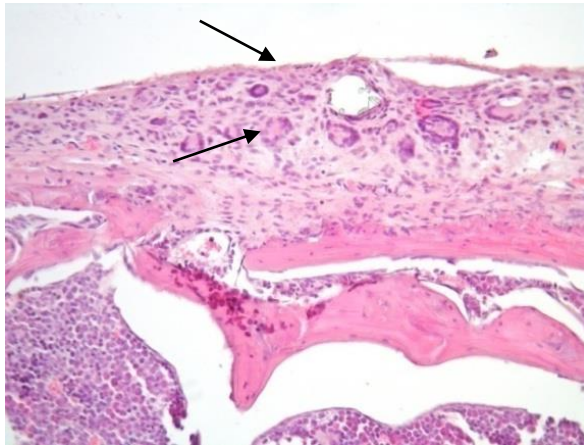
а

б

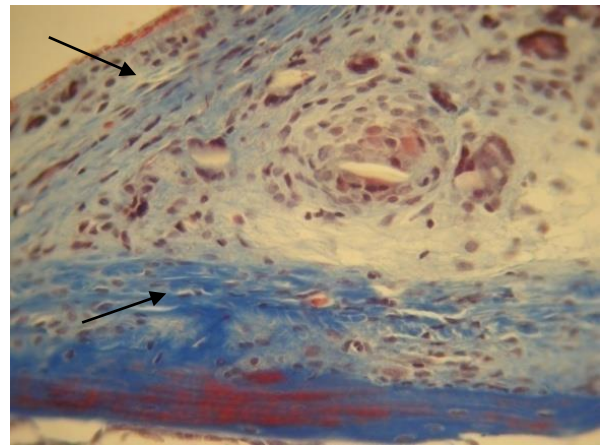
Рисунок 7. Иммуногистохимическая реакция с антителами к ММП-1 (а) и ММП-13 (б) в СГХ у крыс через 1 месяц введения 0,5 мл физ. раствора в левый коленный сустав (опытная группа № 1) (стрелки). Визуализация диаминобензидином. Увеличение $\times 400$

После моделирования ОА происходило уменьшение толщины суставного хряща до $121,0 \pm 20,4$ мкм ($p < 0,05$) и снижение объёмной доли хондроцитов до $1,2 \pm 0,6$ % ($p < 0,05$). Во всех зонах были отмечены множественные «пустые лакуны» и хондроциты с кариопикнозом, обширные участки деструкции суставной поверхности с разрастанием соединительной ткани, в толще которой определялось гранулематозное воспаление с выраженной гистиомакрофагальной инфильтрацией и гигантскими многоядерными клетками типа инородных тел, полнокровием кровеносных сосудов и неравномерным отёком межклеточного вещества (Рисунок 8а). При гистохимическом исследовании в суставном хряще отмечали неравномерность окрашивания коллагеновых волокон с выраженным нарушением тинкториальных свойств матрикса хрящевой ткани. В участках склероза волокна коллагена были окрашены наиболее интенсивно (Рисунок 8б).

По результатам иммуногистохимического исследования у крыс с экспериментальным ОА резко возросло удельное число хондроцитов, экспрессирующих ММП-1: до $73,0 \pm 3,2$ % ($p < 0,05$), (Рисунок 9а), а ММП-13 – до $95,0 \pm 2,1$ % ($p < 0,05$) (Таблица 7) при одновременном максимальном усилении их экспрессии (Рисунок 9б).



а

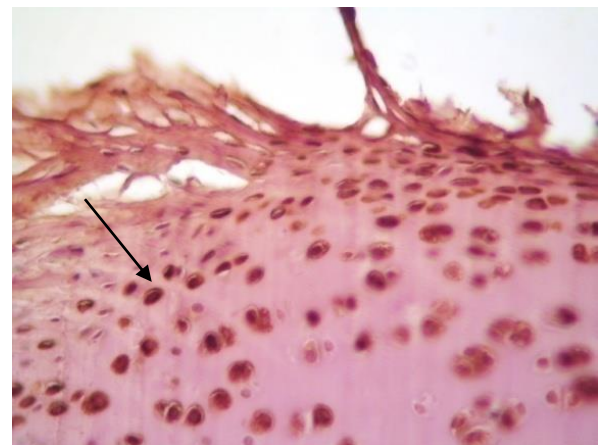


б

Рисунок 8. Морфологическая картина СГХ у крыс через 1 месяц после моделирования ОА (опытная группа № 2): а – «пустые лакуны» с участками деструкции суставной поверхности и разрастанием соединительной ткани, в толще которой видны гигантские многоядерные клетки типа инородных тел (стрелки); окраска: гематоксилином и эозином; увеличение $\times 200$;
б – неравномерность окрашивания коллагеновых волокон с выраженным нарушением тинкториальных свойств матрикса хрящевой ткани (стрелки); окраска по Маллори; увеличение $\times 400$



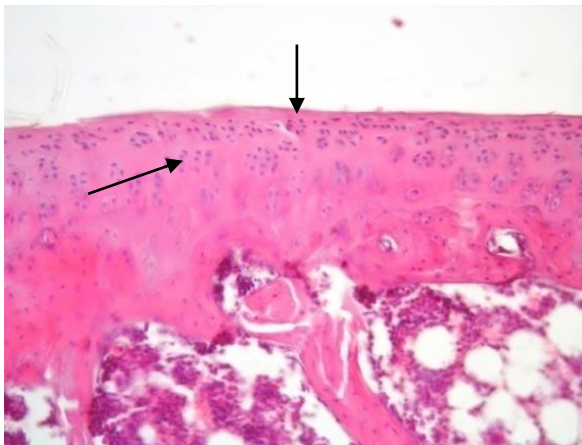
а



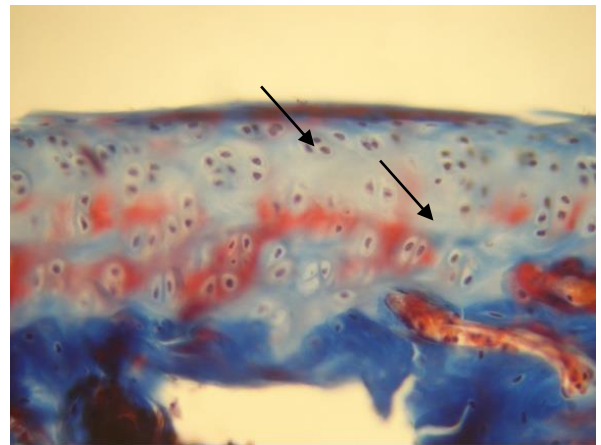
б

Рисунок 9. Иммуногистохимическая реакция с антителами к ММП-1 (а) и ММП-13 (б) в СГХ у крыс через 1 месяц после введения 0,5 мл 10% суспензии стерильного талька в левый коленный сустав ОА у крыс (опытная группа № 2) (стрелки). Визуализация диаминобензидином. Увеличение $\times 400$

После введения ОТП на фоне экспериментального ОА морфометрически было установлено увеличение толщины суставного хряща до $275,0 \pm 18,9$ мкм ($p < 0,05$) и объёмной доли хондроцитов до $18,4 \pm 2,0$ % ($p < 0,05$). Как и после введения ГК различали три отграниченные друг от друга зоны с типичными для ОА деструктивными изменениями, но выраженными в меньшей степени. В поверхностной зоне контуры суставной поверхности выглядели ровными. Несмотря на наличие «пустых» лакун и хондроцитов с признаками распада и образованием апоптозных телец, определяли увеличение количества как отдельно расположенных хондроцитов, так и их изогенных групп во всех зонах (Рисунок 10а). В промежуточной зоне происходила очаговая оссификация межклеточного вещества, что было особенно заметно при окраске по Маллори. Равномерность распределения коллагеновых волокон и тинкториальные свойства хрящевого матрикса сохранялись во всех зонах (Рисунок 10б).



а



б

Рисунок 10. Морфологическая картина СГХ на фоне экспериментального ОА

через 1 месяц после монотерапии ОТП у крыс основной группы № 1:

а – ровные контуры суставной поверхности, наличие «пустых» лакун и хондроцитов, расположенных в большинстве случаев в изогенных группах (стрелки); окраска: гематоксилином и эозином; увеличение $\times 200$;

б – очаговая оссификация межклеточного вещества в промежуточной зоне и равномерное распределение коллагеновых волокон (стрелки); окраска по

Маллори; увеличение $\times 400$

Несколько увеличилось количество хондроцитов, экспрессирующих ММП-1, – до $82,0 \pm 2,7 \%$ ($p < 0,05$) с сохранением количества клеток, экспрессирующих ММП-13, – $97,0 \pm 1,9 \%$ ($p < 0,05$) (Таблица 7). Умеренная экспрессия ММП-1 (Рисунок 11а) и выраженная экспрессия ММП-13 (Рисунок 11б) отмечались в хондроцитах поверхностной и переходной зон.

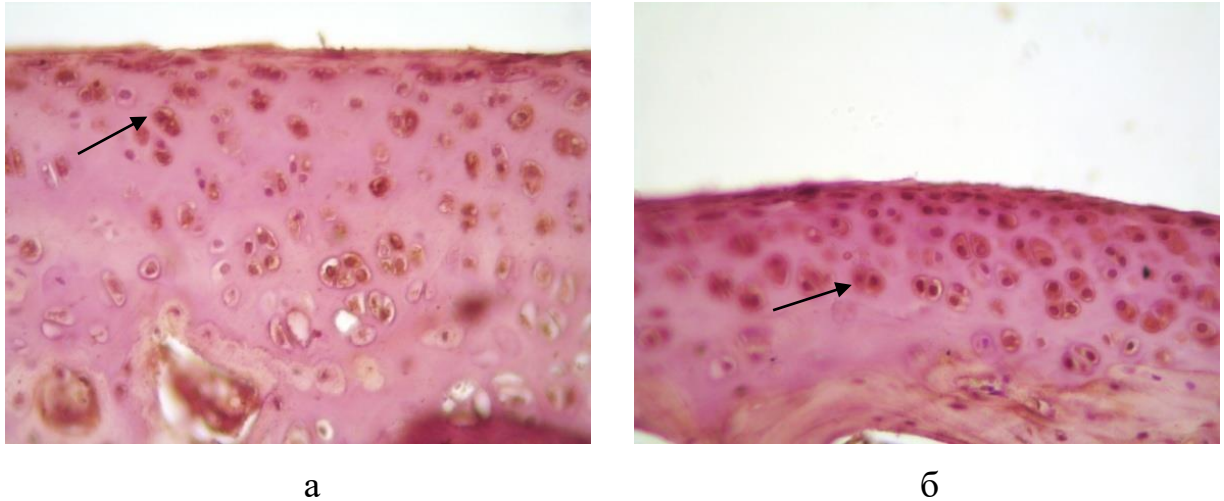
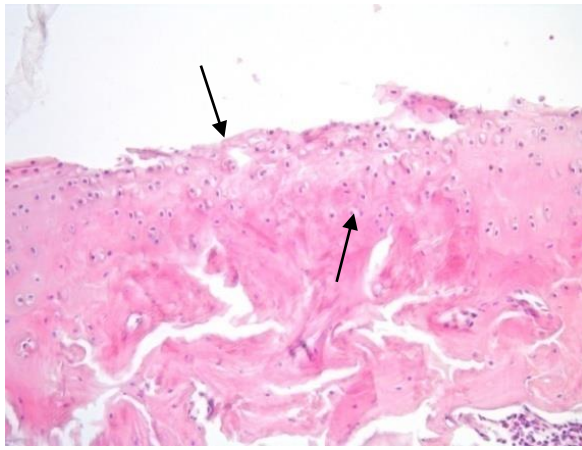


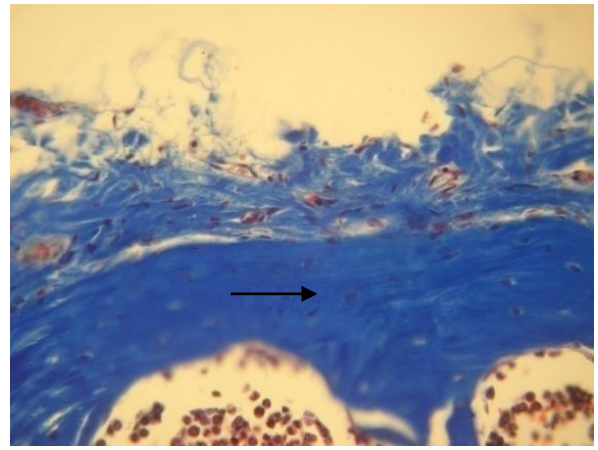
Рисунок 11. Иммуногистохимическая реакция с антителами к ММП-1 (а) и ММП-13 (б) в СГХ на фоне экспериментального ОА через 1 месяц после монотерапии ОТП у крыс основной группы № 1 (стрелки). Визуализация диаминобензидином.

Увеличение $\times 400$

После введения ГК на фоне экспериментального ОА выявлено увеличение толщины хрящевой пластинки до $264,0 \pm 21,3$ мкм ($p < 0,05$) и объёмной доли хондроцитов до $11,6 \pm 1,2 \%$ ($p < 0,05$). Были определены три нечетко отграниченные друг от друга зоны. В поверхностной зоне отмечены участки истончения и разрушения суставной поверхности, дезорганизации коллагеновых волокон основного вещества хряща. Обращало на себя внимание разрастание соединительной ткани, умеренно инфильтрированной лимфоцитами, макрофагами, единичными гигантскими многоядерными клетками типа инородных тел в переходной и базальной зонах (Рисунок 12а). При окраске по Маллори становилась более заметной неравномерность тинкториальных свойств хрящевого матрикса, толщины коллагеновых волокон и отсутствие их единой направленности (Рисунок 12б).



а

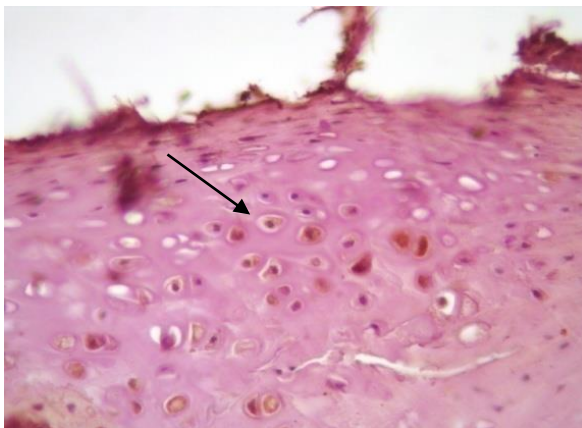


б

Рисунок 12. Морфологическая картина СГХ на фоне экспериментального ОА через 1 месяц после монотерапии ГК у крыс основной группы № 2:

а – участки истончения и разрушения суставной поверхности с разрастанием соединительной ткани (стрелки); окраска: гематоксилином и эозином; увеличение $\times 200$; б – неравномерность тинкториальных свойств матрикса и отсутствие их единой направленности (стрелки); окраска по Маллори; увеличение $\times 400$

Количество хондроцитов, экспрессирующих ММП-1 снизилось до $42,0 \pm 4,0 \%$ ($p < 0,05$), без существенной динамики в отношении клеток, экспрессирующих ММП-13 – $98,0 \pm 3,4 \%$ ($p < 0,05$) (Таблица 7).



а



б

Рисунок 13. Иммуногистохимическая реакция с антителами к ММП-1 (а) и ММП-13 (б) в СГХ на фоне экспериментального ОА через 1 месяц после монотерапии ГК у крыс основной группы № 2 (стрелки). Визуализация диаминобензидином.

Увеличение $\times 400$

Интенсивность экспрессии ММП-1 была незначительной и определялась в единичных хондроцитах переходной зоны (Рисунок 13а). Визуализировалась выраженная экспрессия ММП-13 в большинстве клеток всех зон суставного хряща (Рисунок 13б).

После последовательного введения ОТП и ГК на фоне экспериментального ОА констатировали увеличение толщины хряща до $268,0 \pm 15,3$ мкм ($p < 0,05$) и объёмной доли хондроцитов до $12,7 \pm 0,9$ % ($p < 0,05$). Контуры суставной поверхности выглядели ровными. Во всех зонах – признаки дезорганизации и разволокнения коллагеновых волокон хрящевой ткани.

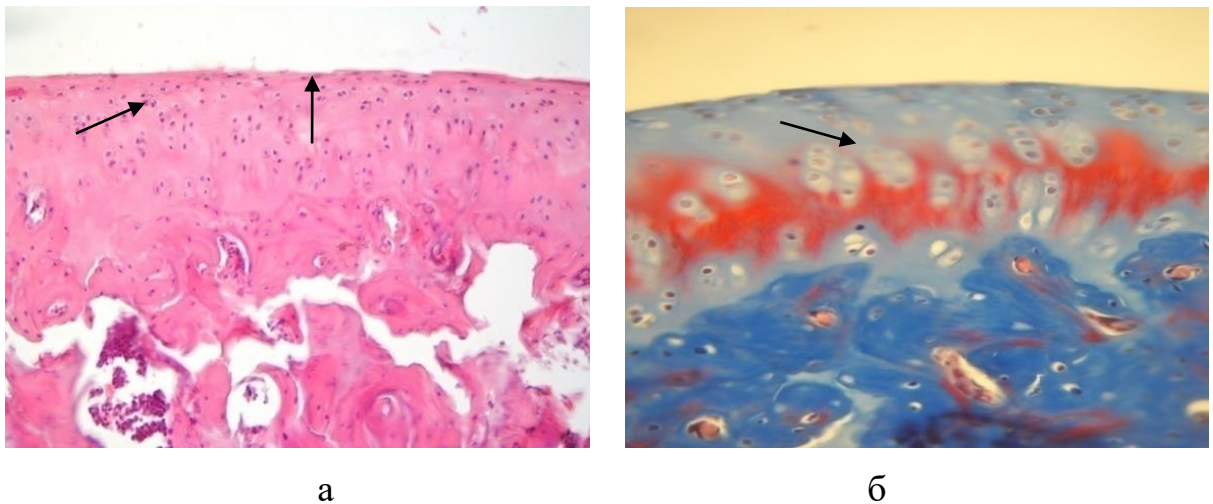


Рисунок 14. Морфологическая картина СГХ на фоне экспериментального ОА через 1 месяц после последовательного применения ОТП и ГК у крыс основной группы № 3: а – ровные контуры суставной поверхности с единичными участками разволокнения хрящевой ткани, большинство хондроцитов расположены в изогенных группах (стрелки); окраска: гематоксилином и эозином; увеличение $\times 200$; б – тинкториальные свойства хрящевого матрикса полностью сохранены с неравномерностью окрашивания коллагеновых волокон в базальном слое (стрелки); окраска по Маллори; увеличение $\times 400$

Межбалочные пространства субхондральной кости были заполнены волокнистой соединительной тканью, богатой сосудами. На поверхности костных

балок, окруженных соединительной тканью, и в межбалочных пространствах определяли отложения остеоида – новообразованной, но еще не минерализованной костной ткани. В промежуточной зоне происходила очаговая оссификация межклеточного вещества (Рисунок 14а).

Тинкториальные свойства хрящевого матрикса полностью сохранялись, лишь базальная зона отличалась очаговой неравномерностью окрашивания коллагеновых волокон (Рисунок 14б).

При иммуногистохимическом исследовании показателей активности ММП-1 и 13 наблюдали картину, схожую с таковой в основной группе №1. Количество хондроцитов, экспрессирующих ММП-1, составило $94,0 \pm 4,5 \%$ ($p < 0,05$), а хондроцитов, экспрессирующих ММП-13, – $98,0 \pm 1,0 \%$ ($p < 0,05$) (Таблица 7). Определялась умеренная экспрессия ММП-1 (Рисунок 15а) и выраженная экспрессия ММП-13 (Рисунок 15б) в большинстве хондроцитов поверхностной, переходной и базальных зон.

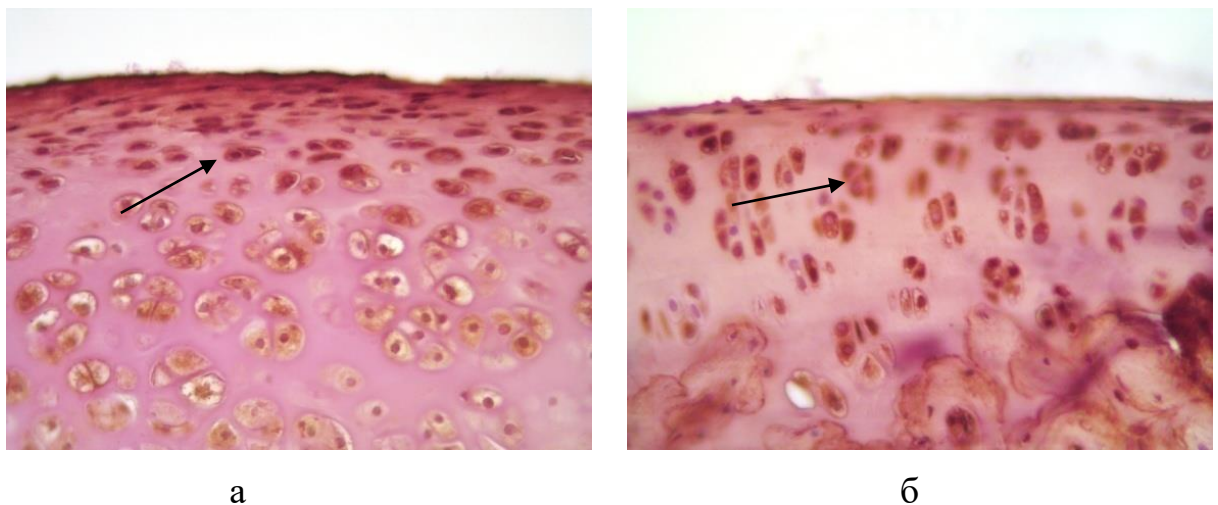


Рисунок 15. Иммуногистохимическая реакция с антителами к ММП-1 (а) и ММП-13 (б) в СГХ на фоне экспериментального ОА через 1 месяц после последовательного применения ОТП и ГК у крыс основной группы № 3 (стрелки). Визуализация диаминобензидином. Увеличение $\times 400$

Таким образом, в ходе моделирования экспериментального ОА коленного сустава формировались грубые деструктивно-дистрофические изменения в СГХ внутреннего мыщелка левой бедренной кости, заключающиеся в снижении его

толщины, объемной доли хондроцитов, выраженном нарушении тинкториальных свойств матрикса хрящевой ткани, с резким повышением показателей активности ММП-1 и ММП-13. Применение монотерапии ОТП, ГК, а также последовательное введение ОТП и ГК оказывало положительное влияние на течение экспериментального ОА коленного сустава, проявляемое в увеличении толщины СГХ, объемной доли хондроцитов, улучшении тинкториальных свойств матрикса хрящевой ткани, снижении показателей активности ММП-1 в большей степени выраженное после внутрисуставного введения ОТП. Следует отметить, что ни один из способов не повлиял на показатели активности ММП-13.

3.2. Обоснование применения нового способа лечения пациентов с остеоартрозом коленного сустава

Успешное, доказанное в эксперименте, применение комбинации ОТП и препарата ГК для лечения остеоартроза, подтолкнуло нас к созданию и разработке нового способа лечения пациентов с ОА коленного сустава. Способ заключается в осуществлении пациенту внутрисуставной инъекции ОТП, дополнительно к которой не ранее, чем через неделю, дважды с периодичностью в одну неделю вводят один из препаратов гиалуроновой кислоты.



а



б

Рисунок 16. Забор цельной крови из локтевой вены (а) с добавлением 10 мл 5%-го раствора цитрата натрия (б).

Приготовление и введение ОТП в коленный сустав пациентов осуществляли в условиях перевязочного кабинета [37, 38, 125].

Начинали с забора 40 мл цельной крови из локтевой вены (Рисунок 16а), которую из шприца сливали в герметично закрывающуюся стерильную пластиковую полупрозрачную ёмкость, добавляли 10 мл 5%-го раствора цитрата натрия в соотношении 1:4 с цельной кровью (Рисунок 16б) и помещали в центрифугу «RotoFix 32А» (Hettich, Германия) с соответствующим противовесом.

Первое центрифугирование проводили в течение 10 мин со скоростью 1 800 об./мин (Рисунок 17а), затем забирали 20 мл надосадочной жидкости и помещали в другую аналогичную стерильную ёмкость (Рисунок 18а).

После второго центрифугирования со скоростью 3 400 об./мин в течение 10 мин (Рисунок 17б) удаляли 15 мл надосадочной жидкости и растворяли выпавшие в осадок форменные элементы в оставшейся плазме (Рисунок 18б).

Плазму извлекали со дна ёмкости с помощью шприца и добавляли к ней 0,1 мл 10%-го раствора хлорида кальция с целью активации тромбоцитов (Рисунок 18в). Для определения концентрации последних забирали 1,5 мл полученной ОТП, 2 мл предназначались для введения в коленный сустав.

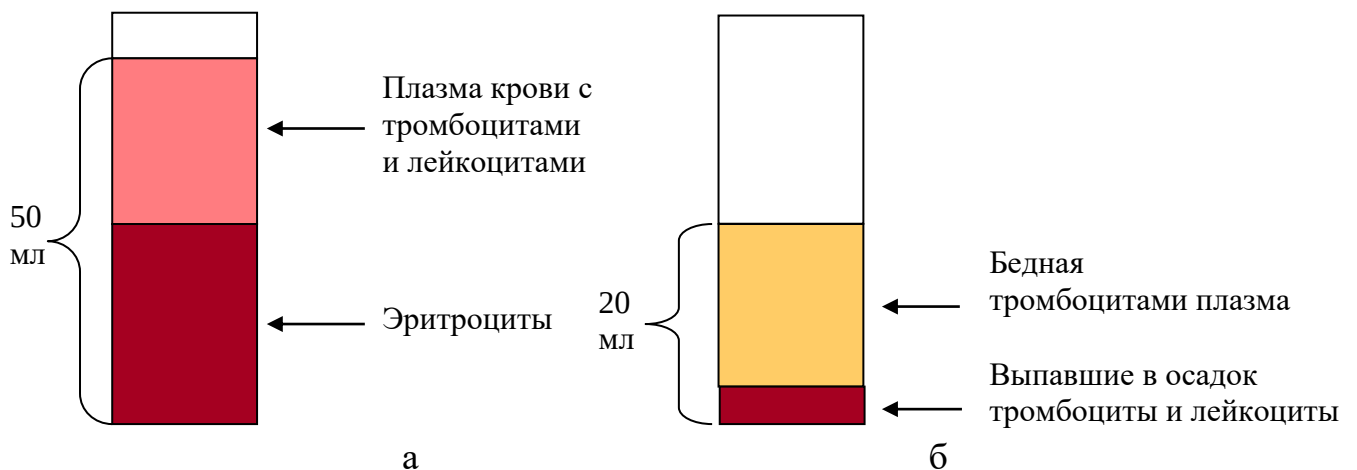
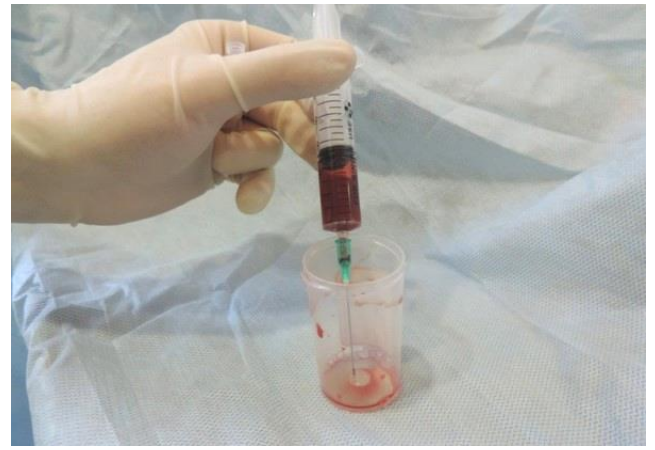


Рисунок 17. Схема разделения фракций крови в ходе первого (а) и второго (б) центрифугирования



а



б



в

Рисунок 18. Этапы получения ОТП: а – забор 20 мл надосадочного слоя плазмы крови после первого центрифугирования; б – забор 5 мл готовой ОТП после второго центрифугирования; в – добавление 0,1 мл 10%-го раствора хлорида кальция к готовой ОТП

Новый способ показан к применению у пациентов с ОА коленного сустава III-IV стадии, получающих длительно обезболивающие препараты, а также у пациентов, которые не могут получать лечение НПВС в силу сопутствующей патологии. Также новый способ можно применять у пациентов, которым предполагается выполнение эндопротезирования коленного сустава с целью отмены приема НПВС в течение длительного времени и снижения рисков наступления осложнений после оперативного вмешательства.

Следует отметить, что на сегодняшний день нет ни одного метода эффективной консервативной терапии запущенного течения ОА коленного сустава. Настоящее изобретение, состоящее в новом комбинированном использовании препаратов для инъекций, включающих ОТП и один из препаратов гиалуроновой кислоты, введенных в определенной последовательности, позволяет получить новый положительный результат, не обеспечиваемый ни одним из известных способов лечения данного заболевания. Получаемый при использовании предлагаемого нами способа положительный результат состоит в более выраженном и длительном обезболивающем эффекте, который пациенты незамедлительно ощущали после одного проведенного курса лечения в виде трех инъекций. В то же время предлагаемый нами способ является недорогим, малоинвазивным, простым методом, который осуществляется путем создания концентрата факторов роста из цельной крови. Указанный результат достигается тем, что в предложенном способе лечения ОА коленного сустава происходит синергичное усиление противовоспалительного эффекта ОТП и ГК.

Из литературных источников известно, что содержащиеся в тромбоцитах факторы роста в ОТП подавляют воспаление, восстанавливая клетки по невоспалительному фенотипу, при этом уровень провоспалительных цитокинов падает, с параллельным увеличением концентрации противовоспалительных цитокинов. В дальнейшем содержащиеся в препаратах ГК цепочки гиалуроната натрия обеспечивают снижение проницаемости сосудистой стенки путем ее восстановления и, тем самым, уменьшают экссудацию.

Хорошие результаты экспериментального исследования позволили разработать нам данный способ для применения в клинике. Оценка его эффективности станет задачей наших последующих исследований.

Применение монотерапии ОТП в экспериментальном исследовании показало аналогично высокий результат, поэтому для дальнейшей сравнительной оценки эффективности лечения в клиническом исследовании у пациентов основных групп с ОА I-II и III-IV стадий мы применяли монотерапию ОТП.

Глава 4.

РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

В клинической части собственных исследований одной из основных задач, наряду с определением эффективности лечения, являлась разработка показаний к назначению ОТП пациентам с ОА коленного сустава. Также было необходимым определение группы пациентов, для которых клинически монотерапия ОТП была бы наиболее целесообразной.

4.1. Результаты обследования и лечения пациентов с остеоартрозом коленного сустава I–II стадии

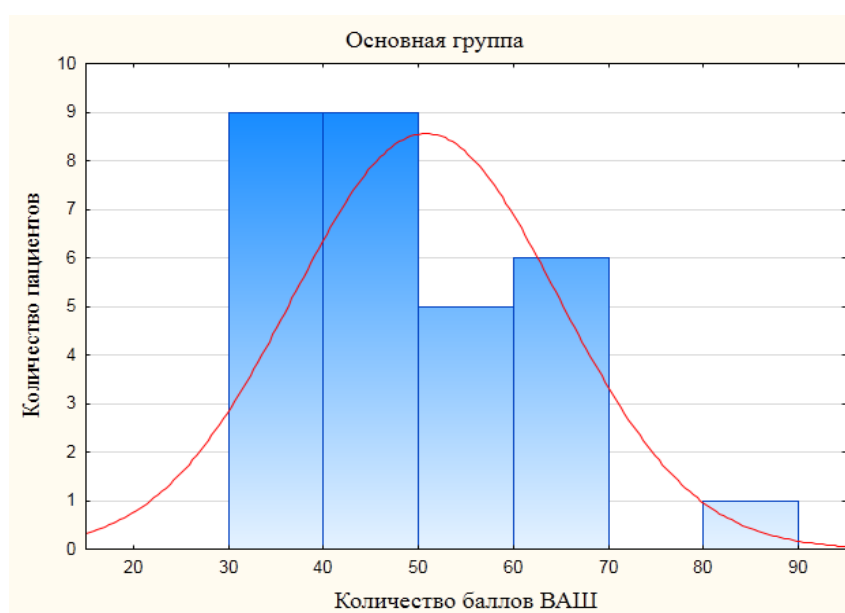
В соответствии с этим, разработка относительно простых критериев включения пациентов в исследование на основании данных современных инструментальных методов диагностики, является объективно необходимой задачей не только в рамках данной работы, но и в контексте рутинной работы лечебно-профилактических учреждений.

Включение пациентов в исследуемые группы проводили на основании параметров, отражающих симптомокомплекс при ОА – боль, нарушение функции и опороспособности, и результатов инструментальных методов исследования, свидетельствующих о повреждении суставного хряща, нарушениях конгруэнтности суставных поверхностей. Кроме этого, все пациенты должны были удовлетворять критериям диагностики ОА коленного сустава, предложенным Американской коллегией ревматологов [72, 191].

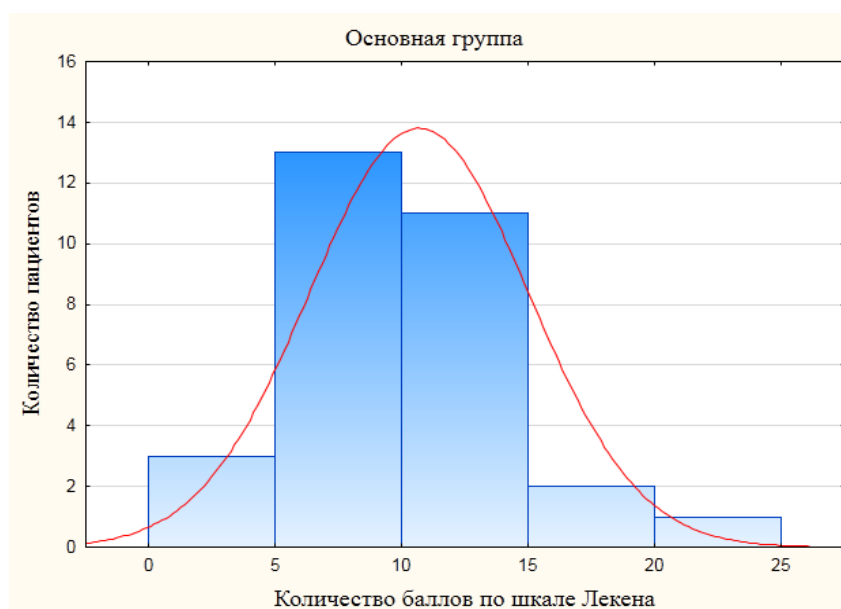
Среди основных симптомов, выявляемых у пациентов с ОА коленного сустава, выделяли боль, хруст и щелчки при движении в коленном суставе.

На боль разной интенсивности и продолжительности указывали 30 (100 %) пациентов основной группы. Интенсивность и продолжительность болевых

ощущений варьировали от незначительных и кратковременных, связанных с физической нагрузкой, до умеренно выраженных и более длительных, сохраняющихся при движениях и в покое. При этом интенсивность боли в суставе составляла не менее 30 баллов по ВАШ (Рисунок 19а), а индекс тяжести гонартроза соответствовал не менее 4 баллов по шкале Лекена (Рисунок 19б).



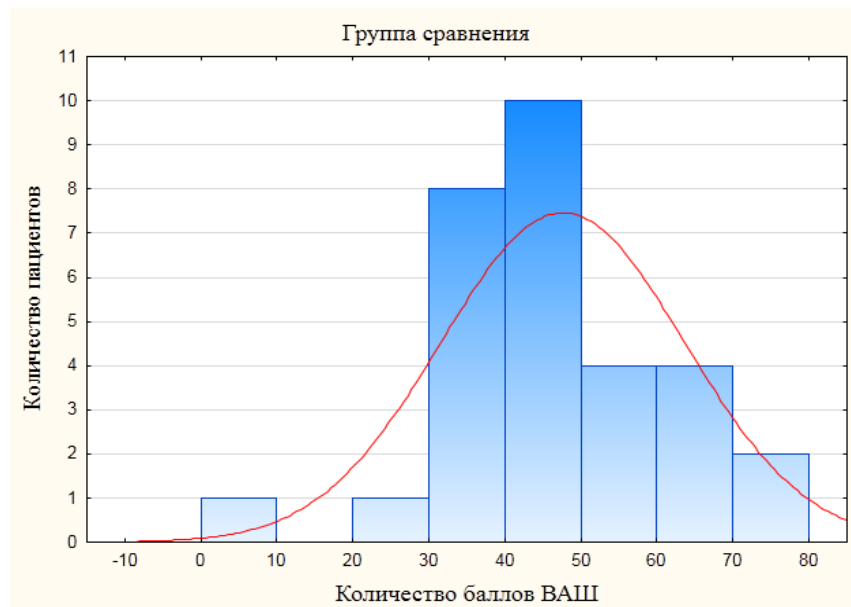
а



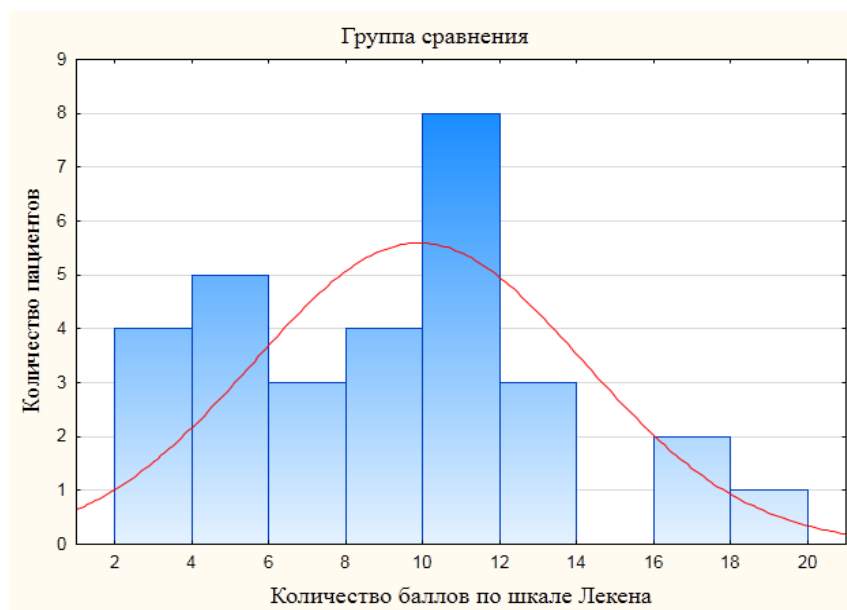
б

Рисунок 19. Распределение пациентов основной группы, исходя из исходных показателей шкалы ВАШ (а) и шкалы Лекена (б)

Аналогичным образом болевой синдром различной степени выраженности имел место быть у 30 (100 %) пациентов группы сравнения. (Рисунок 20).



а



б

Рисунок 20. Распределение пациентов группы сравнения, исходя из исходных показателей шкалы ВАШ (а) и шкалы Лекена (б)

Болевые ощущения были связаны с физической нагрузкой или сохранялись при движениях и в покое, при этом интенсивность боли в суставе составляла не

менее 30 баллов по ВАШ, а индекс тяжести гонартроза соответствовал не менее 4 баллов по шкале Лекена

Нарушение функции и опороспособности более чем у 70 % пациентов основной группы и 75 % респондентов из группы сравнения проявлялось в некоторых ограничениях, возникающих при ходьбе на дистанцию около 1 км и связанных, главным образом, с болевыми ощущениями.

В то же время 30 % пациентов из основной группы и 25 % из группы сравнения могли пройти без боли (спускаясь и поднимаясь) несколько пролетов по лестнице и на расстояние от 500 до 1 км перемещаться по неровной дороге.

Указанную степень функциональных нарушений также относили к критерию включения в исследование. Характеризующий ее функциональный индекс Лекена составлял не менее 4 баллов.

К механическим симптомам нарушения непрерывности и взаимного соответствия суставных поверхностей при гонартрозе относили хруст, щелчки при движениях у 15 пациентов основной группы и 15 пациентов группы сравнения.

Незначительный околосуставной отек, который возникал вследствие тендинозов, бурситов, энтезопатий и отражал асептический воспалительный процесс, обусловленный неравномерной нагрузкой и микротравматизацией мягких тканей, диагностировали у 10 пациентов основной группы и 8 из группы сравнения. Ограничения амплитуды движений в коленном суставе, нарушения функции, атрофии мышц бедер, а также патологической расслабленности структур КСА у пациентов с ранней стадией ОА не наблюдали.

Рентгенологические симптомы деструктивно-дистрофического поражения коленного сустава I-II стадии по классификации J. Kellgren, J. Lawrence наблюдали у всех пациентов. Наиболее достоверным из них считали незначительное сужение суставной щели при рентгенографии с нагрузкой в ортопозиции по сравнению со здоровой стороной. Такое сужение указывало на

частичную утрату СГХ и значительное изменение его эластических свойств в сторону размягчения.

Две сформированные клинические группы пациентов были сравнимы между собой по представительству, основным клинико-морфологическим, исходным показателям ВАШ, шкалы Лекена ($p > 0,05$) и отличались лишь способом лечения ОА коленного сустава – внутрисуставным введением ОТП или препарата ГК.

Полный курс лечения с оценкой его результатов в конечной точке исследования (1 год) прошли 30 (100 %) пациентов основной группы и 30 (100 %) пациентов из группы сравнения.

Средняя концентрация тромбоцитов в получаемой в нашем исследовании ОТП составляла $912 \pm 40 \times 10^9/\text{л}$ (от $872 \times 10^9/\text{л}$ до $952 \times 10^9/\text{л}$), что соответствовало критериям, позволяющим отнести данный продукт к ОТП (Таблица 8) [102].

Таблица 8

Средние показатели крови на этапах получения ОТП

Исходные данные: эритроциты $5,14 \times 10^{12} \pm 1,2$; лейкоциты $5,2 \times 10^9 \pm 1,8$; тромбоциты $230 \times 10^9 \pm 47$	
Центрифугирование 1 (1 800 оборотов 10 минут)	Центрифугирование 2 (3 400 оборотов 10 минут)
Эритроциты $0,06 \pm 0,3 \times 10^{12}$	Эритроциты $3,48 \pm 0,5 \times 10^{12}$
Лейкоциты $1,8 \pm 0,7 \times 10^9$	Лейкоциты $9,7 \pm 0,8 \times 10^9$
Тромбоциты $259 \pm 15 \times 10^9$	Тромбоциты $912 \pm 40 \times 10^9$

Визуальная шкала оценки эффективности лечения через 1 месяц после введения ОТП показала, что 3,3 % пациентов считали достигнутый результат слабым, 23,3 % – удовлетворительным, а 73,4 % – хорошим ($p < 0,05$). К 3-му месяцу наблюдений становилось очевидным некоторое ухудшение относительно первоначальной субъективной оценки эффективности лечения с последующим

продолжающимся постепенным ухудшением к 6-му месяцу наблюдений: количество слабых результатов возросло до 13,3 %, удовлетворительных – до 33,3 %, соответственно количество хороших результатов снизилось до 50 % без существенных изменений к 1-му году наблюдений (Рисунок 21а, Таблица 9).

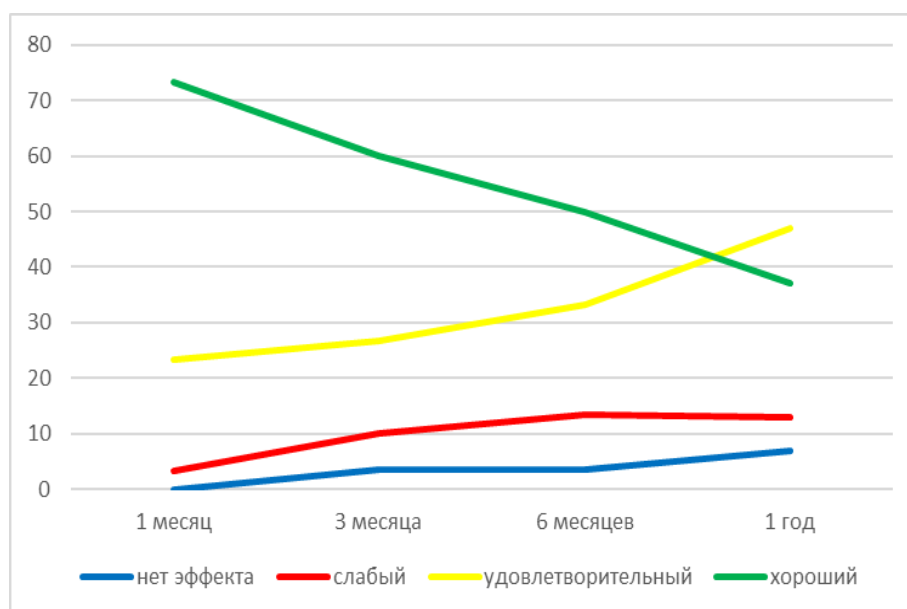
Подобная динамика имела место и с результатами лечения пациентов из группы сравнения, которым внутрисуставно вводили препарат ГК. По их мнению, через 1 месяц наблюдения результат можно было считать слабым у 3,3 % респондентов, удовлетворительным – у 46,7 %, хорошим – у 50 %. Достигнутый качественный уровень оценки не претерпел существенных изменений к 3 месяцам, но ухудшился за счет перераспределения результатов через 6 месяцев в большей степени, чем у пациентов основной группы. Так, количество слабых результатов увеличилось до 13,3 %, удовлетворительных – до 50 %, количество хороших результатов, напротив, уменьшилось до 30 % без существенных изменений к 1-му году наблюдений (Рисунок 21б, таблица 9).

Таблица 9

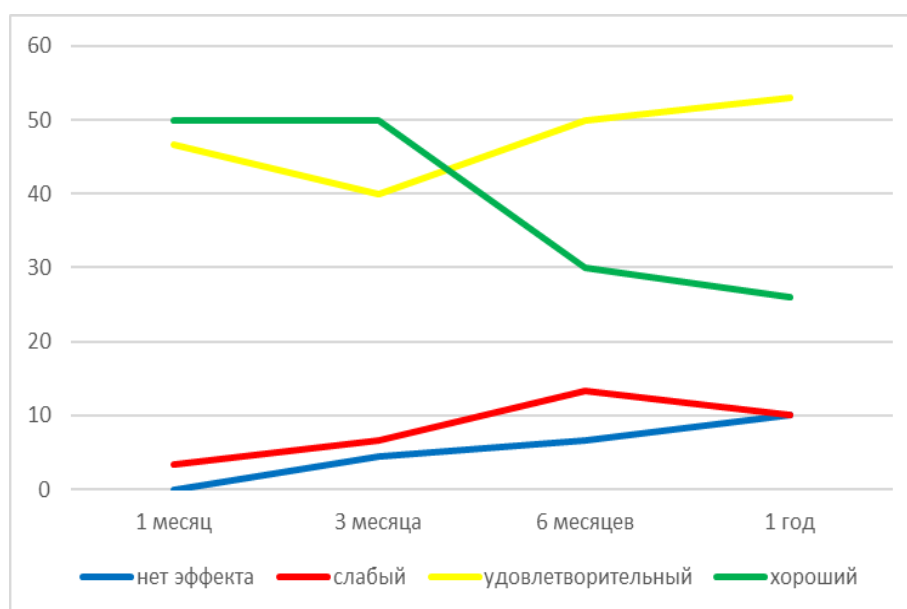
**Результаты лечения пациентов основной группы и группы сравнения
по ВШОЭЛ (%)**

Результат лечения	Нет эффекта		Слабый		Удовлетво- рительный		Хороший		Отличный	
	ГК	ОТП	ГК	ОТП	ГК	ОТП	ГК	ОТП	ГК	ОТП
Клиническая группа										
До лечения	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Через 1 месяц	-	-	3,3	3,3*	46,7	23,3*	50	73,4*	-	-
Через 3 месяца	3,4	3,4	6,6	10	40	26,6	50	60	-	-
Через 6 месяцев	6,7	3,4	13,3	13,3	50	33,3	30	50	-	-
Через 1 год	10	3,5	10	13,3	53,3	46,6	26,7	36,6	-	-

Примечание. Значимость различий ($p < 0,05$) при сравнении показателей: * – по отношению к группе сравнения.



а

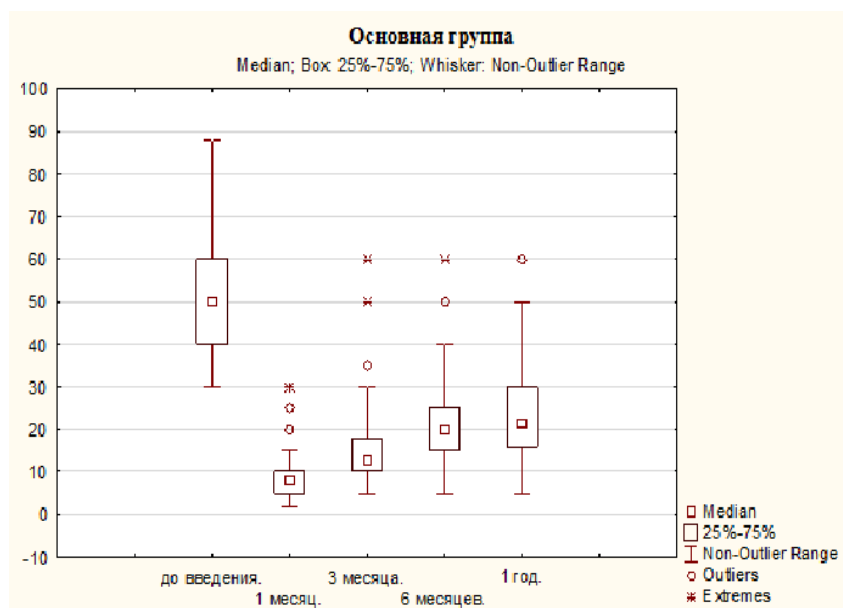


б

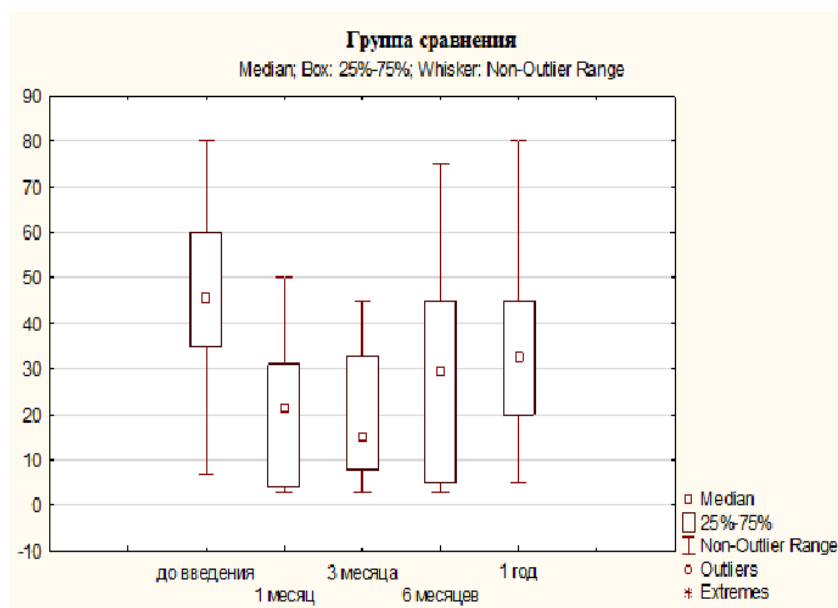
Рисунок 21. Вербальная оценка эффективности лечения пациентов основной группы (а) и группы сравнения (б) в динамике

Опрос пациентов основной группы по ВАШ через 1 месяц после введения ОТП показал существенное снижение интенсивности болевого синдрома с исходных $50,76 \pm 5,22$ до $9,6 \pm 2,41$ баллов ($p < 0,05$). Положительная динамика в отношении боли продолжала сохраняться до 3 месяцев наблюдения, а к 6 месяцам показатели несколько ухудшались с последующей отрицательной

динамикой до $24,5 \pm 4,8$ баллов ($p < 0,05$) к 1-му году наблюдений (Таблица 10, рисунок 22а).



а



б

Рисунок 22. Динамика выраженности болевого синдрома у пациентов основной группы (а) и группы сравнения (б) по ВАШ (график «ящик с усами»)

Несколько меньшее снижение интенсивности болевого синдрома по ВАШ отмечали у пациентов из группы сравнения после внутрисуставного введения препарата ГК. Спустя 1 месяц показатели шкалы демонстрировали

положительную динамику и уменьшались с $47,6 \pm 5,99$ до $19,83 \pm 5,82$ баллов ($p < 0,05$), практически не имели изменений через 3 месяца наблюдения и постепенно ухудшались к 6-му месяцу – до $29,13 \pm 7,73$ баллов ($p < 0,05$), а к 1-му году наблюдения – до $32,66 \pm 6,93$ баллов ($p < 0,05$) (Рисунок 22б, таблица 10).

Таблица 10

Выраженность болевого синдрома у пациентов основной группы и группы сравнения по ВАШ (баллы)

Клинические группы	До лечения	1 месяц	3 месяца	6 месяцев	1 год
Основная группа (ОТП)	$50,76 \pm 5,22$	$9,60 \pm 2,41^*$	$17,13 \pm 4,83^{**}$	$21,66 \pm 4,63^*$	$24,5 \pm 4,8^*$
Группа сравнения (ГК)	$47,60 \pm 5,99$	$19,83 \pm 5,82^*$	$20,56 \pm 4,92^*$	$29,13 \pm 7,73^*$	$32,66 \pm 6,93^*$

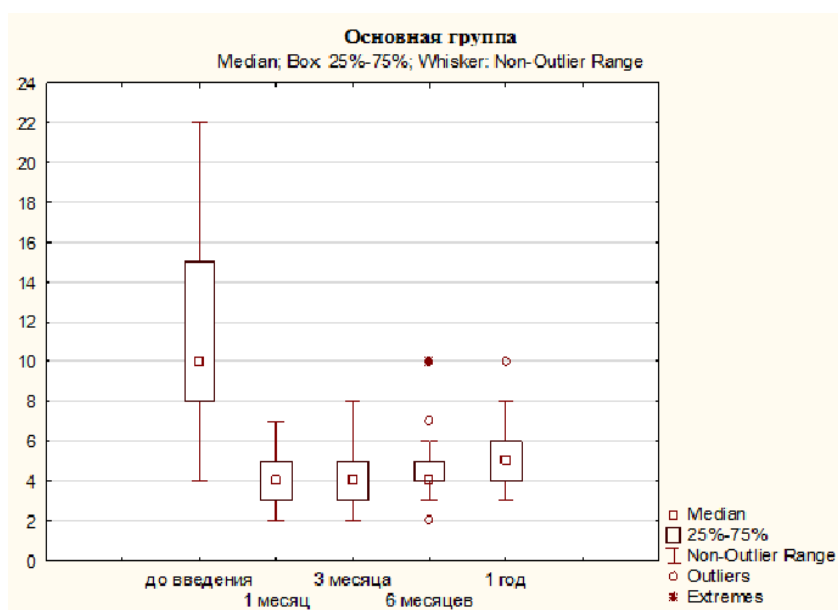
Примечание. Значимость различий ($p < 0,05$) при сравнении показателей: * – по отношению к выборке до лечения; ** – по отношению к группе сравнения.

Прекращение или снижение выраженности болевого синдрома у пациентов обеих клинических групп, отмеченное с помощью ВАШ, положительно сказывалось на функциональных возможностях коленного сустава, характеризующихся индексом Лекена. Более того, изменения индекса Лекена отражали динамику не только показателей ВАШ, но и ВШОЭЛ.

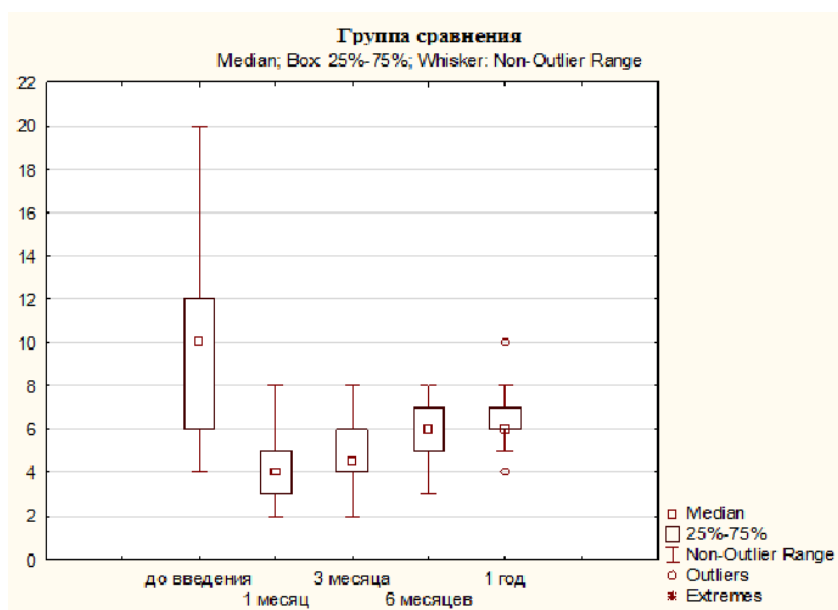
По прошествии 1 месяца после введения ОТП пациентам основной группы индекс Лекена уменьшался почти в 3 раза – с $10,66 \pm 1,61$ до $3,93 \pm 0,54$ баллов ($p < 0,05$), а затем через 3 и 6 месяцев, 1 год постепенно увеличивался до $5,3 \pm 0,6$ баллов ($p < 0,05$) (Рисунок 23а, таблица 11).

В группе сравнения введение препарата ГК приводило к двукратному уменьшению индекса Лекена через 1 месяц наблюдения. Снижение показателей с $9,9 \pm 1,6$ до $4,46 \pm 0,64$ баллов ($p < 0,05$) сохранялось без достоверных

изменений до 3 месяцев, а в последующем изменялось на их увеличение до $6,5 \pm 0,47$ баллов ($p < 0,05$) к 1-му году наблюдения (Рисунок 23б, таблица 11).



а



б

Рисунок 23. Динамика индекса тяжести гонартроза по шкале Лекена у пациентов основной группы (а) и группы сравнения (б) (график «ящик с усами»)

В ходе лечения ОТП или препаратом ГК было отмечено одно осложнение. После первой инъекции 9 пациентов основной группы и 7 пациентов из группы сравнения высказывали беспокойство по поводу небольшого усиления болевого

синдрома в коленном суставе, которое проходило без специального лечения в течение нескольких суток и не повторялось при последующих введениях.

Таблица 11

Оценка результатов лечения пациентов основной группы и группы сравнения с использованием шкалы Лекена

Клинические группы	До лечения	1 месяц	3 месяца	6 месяцев	1 год
Основная группа (ОТП)	$10,66 \pm 1,61$	$3,93 \pm 0,54^*$	$4,00 \pm 0,52^{**}$	$4,60 \pm 0,61^{**}$	$5,3 \pm 0,6^{**}$
Группа сравнения (ГК)	$9,9 \pm 1,6$	$4,46 \pm 0,64^*$	$4,73 \pm 0,50^*$	$5,76 \pm 0,51^*$	$6,50 \pm 0,47^*$

Примечание. Значимость различий ($p < 0,05$) при сравнении показателей: * – по отношению к выборке до лечения; ** – по отношению к группе сравнения.

Других местных осложнений, включая появление или усиление околосуставного отека, синовита, возникновение воспалительного процесса, выявлено не было.

Лечение ОТП или препаратом ГК не оказывало влияния на течение сопутствующих ОА заболеваний других органов и систем.

Приверженность к лечению ОА ОТП или ГК оказалась одинаково высокой в обеих клинических группах – полный курс внутрисуставных инъекций прошли все пациенты из основной группы и группы сравнения.

Клинический пример 1

Пациентка С., 59 лет, 2012 г., наблюдалась в условиях травматолого-ортопедического отделения с диагнозом «Деформирующий остеоартроз левого коленного сустава I-II стадии. Болевой синдром» (Рисунок 24а).

Жалобы предъявляла на боли в левом коленном суставе, усиливающиеся при ходьбе, ограничение опороспособности на левой нижней конечности.



а

б

Рисунок 24. Пациентка С., 59 лет, до начала курса лечения
а – общий вид пациентки; б – объем сгибания в коленных суставах на фоне
болевого синдрома

Анамнез. Со слов пациентки, болевой синдром беспокоил около 5 лет. Амбулаторное лечение, включавшее прием НПВС (диклофенак, найз и т. п.), ЛФК, ФТЛ, приводило к продолжительным эпизодам стихания болевого синдрома с обострениями в весенний и осенний периоды. В течение последних 2 месяцев периодически принимала таблетированные формы НПВП (диклофенак, найз и т. п.) для купирования болевого синдрома.

Ортопедический статус. Левый коленный сустав незначительно отечен. Отмечалась болезненность при пальпации периартикулярных тканей с незначительным нарушением функции сустава. Движения в левом коленном суставе были умеренно болезненными..

Амплитуда движений в коленных суставах(Рисунок 24б):

	Слева	Справа	норма
Сгибание/разгибание	100°/0°/5–10°	100°/0°/5–10°	120–150°/0°/5–10°
Боковая подвижность	Нет	Нет	нет

По шкале ВАШ – 40 баллов, по шкале Лекена – 8 баллов.

При рентгенографии левого коленного сустава выявлены: незначительное сужение суставной щели в медиальной области сустава, единичные небольшие остеофиты, субхондральный склероз (Рисунок 25).

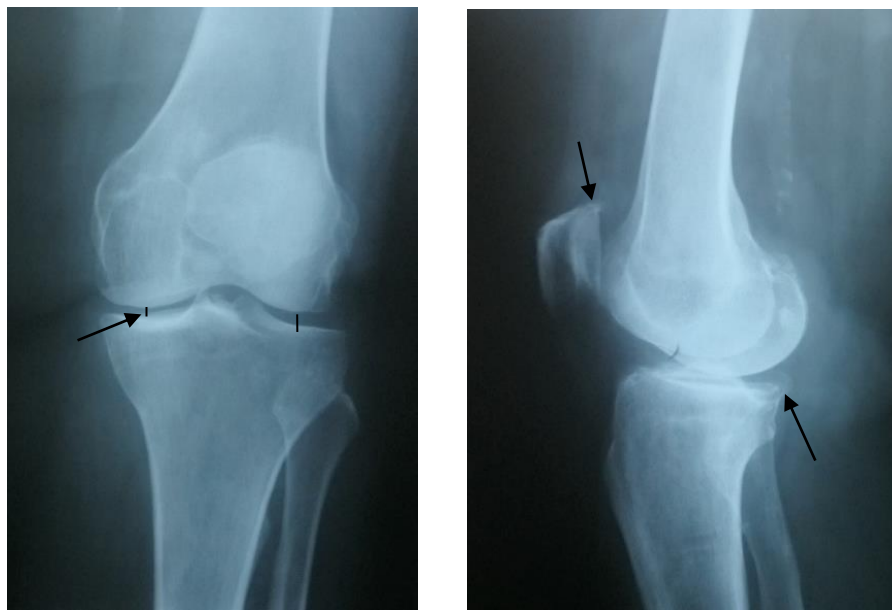


Рисунок 25. Рентгенография левого коленного сустава пациентки С, 59 лет в прямой и боковой проекции (стрелками указаны единичные остеофиты)

Рентгенологическая картина соответствовала II стадии ОА по классификации J. Kellgren, J. Lawrence.

Пациентке С. в асептических условиях выполнены три внутрисуставные инъекции препарата гиалуроновой кислоты с периодичностью 1 раз в 7 дней.

Через 1 месяц после лечения

Пациентка соблюдала предписанные рекомендации, выполнила курс упражнений ЛФК. Во время контрольного осмотра предъявляла жалобы на незначительные боли в левом коленном суставе. Отметила постепенное выраженное снижение болевого синдрома и восстановление функции левого коленного сустава, по 100-бальной ВАШ оценивала болевые ощущения в 30 баллов, ночные боли не указывала.

Ортопедический статус: пальпация периартикулярных тканей незначительно болезненная. Отмечена небольшая отечность мягких тканей. Локальной гипертермии по сравнению с правым коленным суставом нет.

Пациентка отметила, что в повседневной деятельности периодически беспокоят невыраженные боли во время спуска по лестнице. Периодически принимает НПВС после длительной ходьбы.

Объем движений в коленных суставах:

	Слева	справа	норма
Сгибание/разгибание	120°/0°/5–10°	110°/0°/5–10°	120–150°/0°/5–10°
Боковая подвижность	Нет	нет	нет

По шкале Лекена – 5 баллов.

Через **3 месяца** после проведенного лечения

Жалоб активно на момент осмотра пациентка не предъявляла.

Пациентка отметила полное купирования болевого синдрома. Небольшой дискомфорт в левом коленном суставе при движениях беспокоил только после длительных нагрузок (во время работы на даче), в то же время пациентка отметила значительное улучшение функциональных способностей коленного сустава, выражавшееся в способности выдерживать более тяжелые и длительные нагрузки по сравнению с состоянием до лечения. По ВАШ – 15 баллов.

Ортопедический статус: пальпация периартикулярных тканей безболезненная.

Объем движений в коленных суставах:

	Слева	справа	норма
Сгибание/разгибание	120°/0°/5–10°	110°/0°/5–10°	120–150°/0°/ 5–10°
Боковая подвижность	Нет	нет	нет

По шкале Лекена – 4 балла.

Через **6 месяцев** после проведенного лечения

Жалоб активно на момент осмотра пациентка не предъявляла. Болевой синдром не беспокоил. Небольшой дискомфорт в левом коленном суставе при

движениях беспокоил только после длительных нагрузок. По ВАШ – 20 баллов. Уровень активного приседания остался на прежнем уровне.

Ортопедический статус: пальпация периартикулярных тканей безболезненная.

Объем движений в коленных суставах:

	Слева	справа	Норма
Сгибание/разгибание	120°/0°/5–10°	110°/0°/5–10 °	120–150 °/0°/5–10°
Боковая подвижность	Нет	нет	Нет

По шкале Лекена – 5 баллов.

Через **12 месяцев** после проведенного лечения

Жалоб активно на момент осмотра пациентка не предъявляла. Болевой синдром стал беспокоить чаще, чем раньше, но принципиального значения не имел. По ВАШ – 30 баллов. (Рисунок 26а). Ортопедический статус: пальпация периартикулярных тканей безболезненная.



Рисунок 26. Пациентка С., 60 лет, через 12 месяцев после выполненного курса лечения: а – общий вид пациентки; б – объем сгибания в коленных суставах

Объем движений в коленных суставах (Рисунок 26б):

	Слева	справа	норма
Сгибание/разгибание	120°/0°/5–10°	110°/0°/5–10 °	120–150 °/0°/5–10°
Боковая подвижность	Нет	нет	нет

По шкале Лекена – 6 баллов.

По данным контрольной рентгенографии левого коленного сустава отрицательной динамики не отмечено.

В целом пациентка хорошо перенесла курс лечения препаратом гиалуроновой кислоты. Каких-либо осложнений отмечено не было как во время проведения внутрисуставных инъекций, так и в отдаленный период. По ВШОЭЛ пациентка отметила результат лечения как удовлетворительный на протяжении 1 года наблюдения.

Клинический пример 2.

Пациентка Т., 55 лет, № ИБ 184/30, 2013 г., поступила в отделение ортопедии с диагнозом «Деформирующий остеоартроз левого коленного сустава II стадии. Болевой синдром». Жалобы предъявляла на боли в левом коленном суставе, усиливающиеся при ходьбе, нарушение функции опоры и ходьбы (Рисунок 27а).



Рисунок 27. Пациентка Т., 55 лет, до выполнения курса лечения

а – общий вид пациентки, б – объем сгибания в коленных суставах на фоне болевого синдрома

Анамнез. Со слов пациентки, болевой синдром беспокоил около 3 лет. Амбулаторное лечение, включавшее прием НПВП (диклофенак, найз и т. п.), ЛФК, ФТЛ, приводило к продолжительным эпизодам стихания болевого синдрома с обострениями в весенний и осенний периоды. В течение последних 3 месяцев периодически принимает НПВС (диклофенак, найз и т. п.) для купирования болевого синдрома.

Ортопедический статус. Левый коленный сустав незначительно отечен. Отмечалась болезненность при пальпации периартикулярных тканей с незначительным нарушением функции сустава. Движения в левом коленном суставе были умеренно болезненными и ограничены (Рисунок 27б).

Амплитуда движений в коленных суставах:

	Слева	справа	норма
Сгибание/разгибание	120°/0°/5–10°	110°/0°/5–10°	120–150°/0°/5–10°
Боковая подвижность	Нет	нет	нет

По шкале ВАШ – 45 баллов, по шкале Лекена – 8 баллов.

При рентгенографии левого коленного сустава выявлены: незначительное сужение суставной щели в медиальной области сустава, единичные небольшие остеофиты, субхондральный склероз (Рисунок 28).

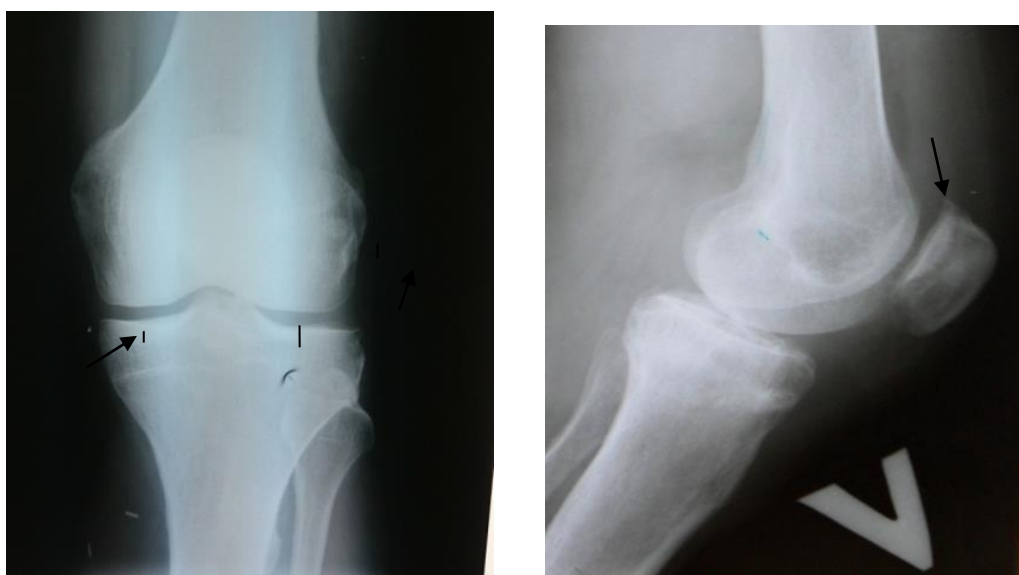


Рисунок 28. Рентгенография левого коленного сустава пациентки Т., 55 лет, в прямой и боковой проекции (стрелками указаны единичные остеофиты)

Рентгенологическая картина соответствует II стадии ОА по классификации J. Kellgren, J. Lawrence.

Пациентке Т. в асептических условиях по методике, изложенной в параграфе 2.3, выполнены три внутрисуставные инъекции ОТП с периодичностью 1 раз в 21 день. ОТП получали способом, описанным в параграфе 2.6.

Через 1 месяц после лечения

Пациентка соблюдала предписанные рекомендации, выполнила курс упражнений ЛФК. Во время контрольного осмотра активных жалоб не предъявляла. Отметила выраженное снижение болевого синдрома и восстановление функции левого коленного сустава, по 100-бальной ВАШ оценивала болевые ощущения в 10 баллов, ночные боли не указывала.

Ортопедический статус: пальпация периартикулярных тканей безболезненная. Отечность мягких тканей полностью купирована. Локальной гипертермии по сравнению с правым коленным суставом нет.

Пациентка отмечает, что в повседневной деятельности ее коленный сустав не беспокоит. Необходимости в приеме НПВП нет.

Объем движений в коленных суставах:

	Слева	справа	норма
Сгибание/разгибание	120°/0°/5–10°	110°/0°/5–10°	120–150°/0°/5–10°
Боковая подвижность	Нет	нет	нет

По шкале Лекена – 4 балла.

Через 3 месяца после проведенного лечения

Жалоб активно на момент осмотра пациентка не предъявляла. Небольшой дискомфорт в левом коленном суставе при движениях беспокоил только после длительных нагрузок (во время работы на даче), в то же время пациентка отметила значительное улучшение функциональных способностей коленного сустава, выражавшееся в способности выдерживать более тяжелые и длительные нагрузки по сравнению с состоянием до лечения. По ВАШ – 10 баллов.

Ортопедический статус: пальпация периартикулярных тканей безболезненная.

Объем движений в коленных суставах:

	Слева	справа	норма
Сгибание/разгибание	120°/0°/5–10°	110°/0°/5–10°	120–150°/0°/ 5–10°
Боковая подвижность	Нет	нет	нет

По шкале Лекена – 4 балла.

Через **6 месяцев** после проведенного лечения

Жалоб активно на момент осмотра пациентка не предъявляла. Болевой синдром не беспокоил. Небольшой дискомфорт в левом коленном суставе при движениях беспокоил только после длительных нагрузок. По ВАШ – 17 баллов.

Ортопедический статус: пальпация периартикулярных тканей безболезненная.

Объем движений в коленных суставах:

	Слева	справа	норма
Сгибание/разгибание	120°/0°/5–10°	110°/0°/5–10 °	120–150 °/0°/5–10°
Боковая подвижность	Нет	нет	нет

По шкале Лекена – 4 балла.

Через **12 месяцев** после проведенного лечения

Жалоб активно на момент осмотра пациентка не предъявляла. Болевой синдром беспокоил редко и проявлялся незначительно.

По ВАШ – 20 баллов.

Ортопедический статус: пальпация периартикулярных тканей безболезненная. Движения в коленных суставах в полном объеме (Рисунок 29а и 29б).

Объем движений в коленных суставах:

	Слева	справа	норма
Сгибание/разгибание	120°/0°/5–10°	110°/0°/5–10 °	120–150 °/0°/5–10°
Боковая подвижность	Нет	нет	нет

По шкале Лекена – 5 баллов.



а

б

Рисунок 29. Пациентка Т., 56 лет, спустя 12 месяцев после выполненного курса лечения: а- общий вид пациентки; б - объем сгибания в коленных суставах

По данным контрольной рентгенографии левого коленного сустава отрицательной динамики не отмечено

В целом пациентка хорошо перенесла курс лечения ОТП. Каких-либо осложнений отмечено не было как во время проведения внутрисуставных инъекций, так и в отдаленный период. По ВШОЭЛ пациентка отметила результат лечения как хороший на протяжении 1 года наблюдения.

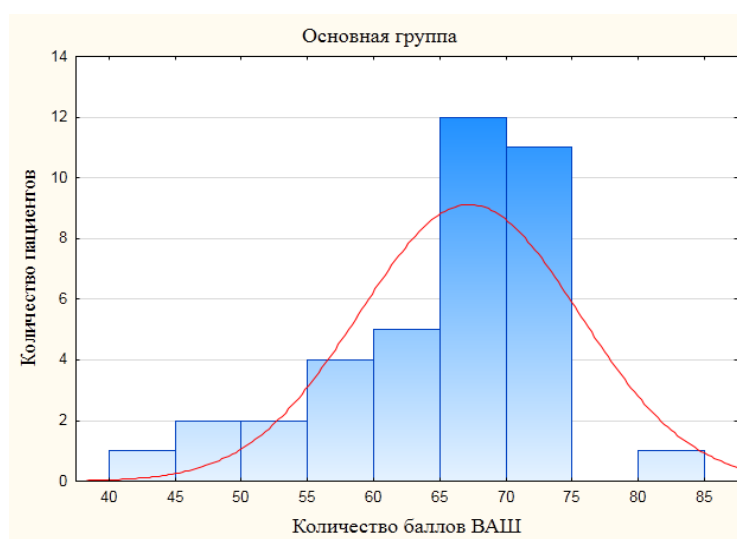
Таким образом, лечение пациентов ОТП с гонартрозом I-II стадии сопровождалось более выраженной положительной динамикой по сравнению с пациентами, получившим курс вискозапплементарной терапии.

4.2. Результаты обследования и лечения пациентов с остеоартрозом коленного сустава III-IV стадии

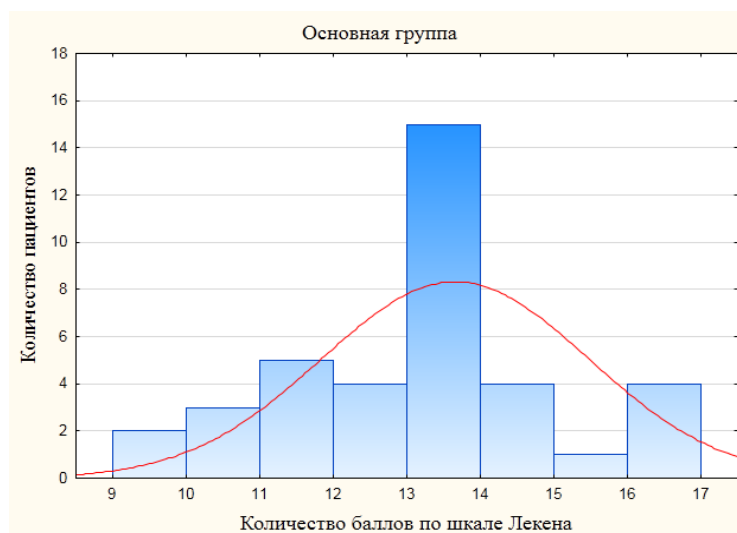
Среди основных симптомов, выявляемых у пациентов с ОА коленного сустава III-IV стадии, выделяли боль, хруст и щелчки при движении в коленном

суставе, отек периартикулярных тканей, ограничение движений, атрофию и снижение силы мышц нижней конечности, недостаточность структур КСА.

На боль разной интенсивности и продолжительности указывал 51 (100 %) пациент основной группы. Интенсивность и продолжительность болевых ощущений варьировалась от незначительных и кратковременных, связанных с физической нагрузкой, до выраженных и постоянных, сохраняющихся при движениях и в покое, при этом интенсивность боли в суставе составляла не менее 40 баллов по ВАШ (Рисунок 30а),



а

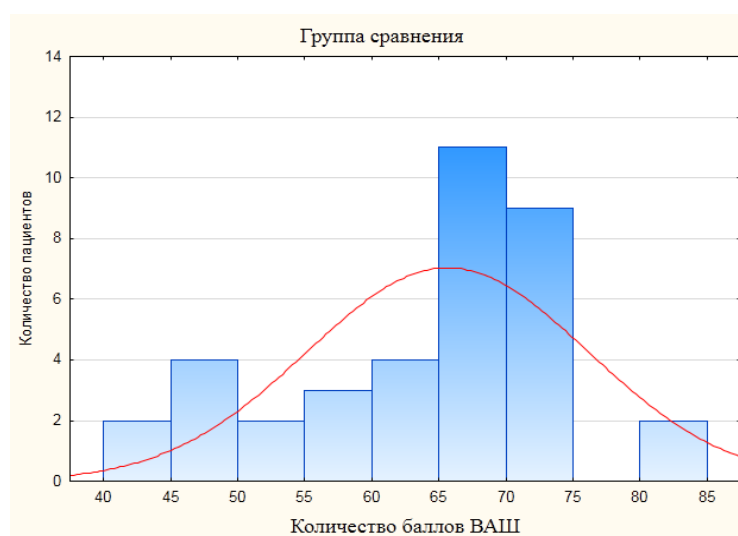


б

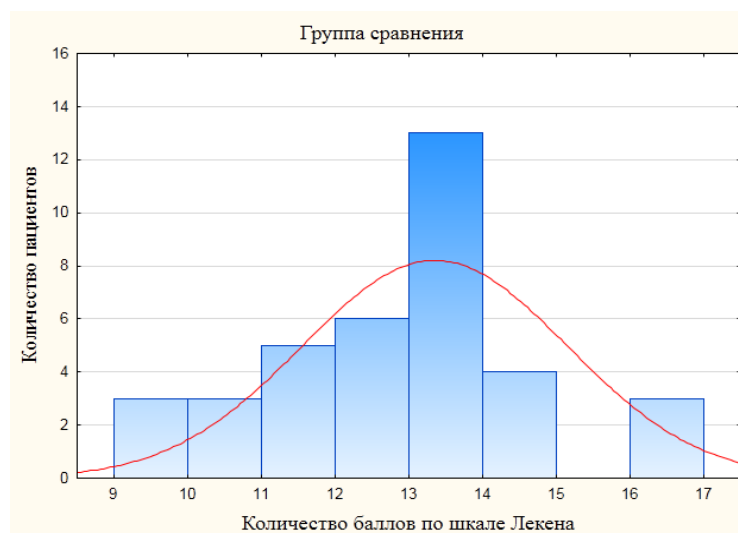
Рисунок 30. Распределение пациентов основной группы, исходя из исходных показателей шкалы ВАШ (а) и шкалы Лекена (б)

а индекс тяжести гонартроза соответствовал не менее 10 баллов по шкале Лекена (Рисунок 30б).

Аналогичным образом болевой синдром различной степени выраженности имел место быть у 51 (100 %) пациента группы сравнения. Болевые ощущения были связаны с физической нагрузкой или сохранялись при движениях и в покое, при этом интенсивность боли в суставе составляла не менее 40 баллов по ВАШ (Рисунок 31а), а индекс тяжести гонартроза соответствовал не менее 10 баллов по шкале Лекена (Рисунок 31б).



а



б

Рисунок 31. Распределение пациентов группы сравнения, исходя из исходных показателей шкалы ВАШ (а) и шкалы Лекена (б)

Нарушение функции и опороспособности более чем у 72 % пациентов основной группы и 77 % респондентов из группы сравнения проявлялось в ограничениях, возникающих при ходьбе на дистанцию около 300 м и связанных, главным образом, с болевыми ощущениями. В то же время 28 % пациентов из основной группы и 23 % из группы сравнения могли пройти без боли (спускаясь и поднимаясь) ни одного пролета по лестнице и небольшое расстояние (до 100 м) перемещаться по неровной дороге. Указанную степень функциональных нарушений также относили к критерию включения в исследование. Характеризующий ее функциональный индекс Лекена составлял не менее 10 баллов.

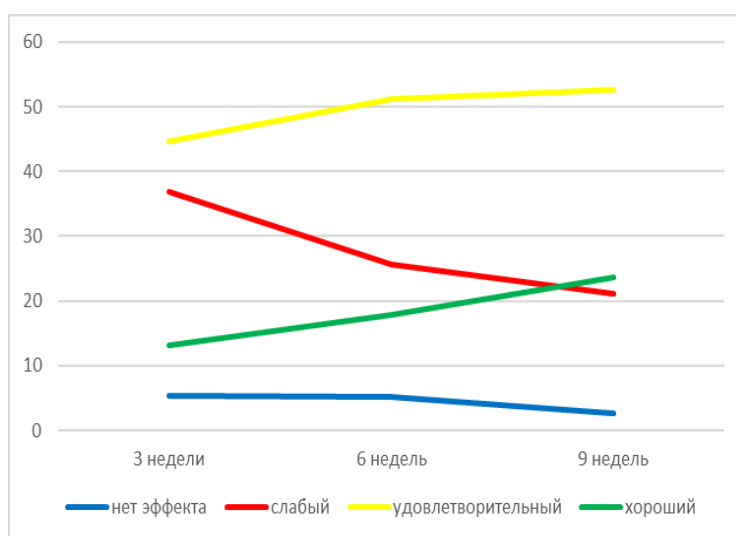
К механическим симптомам нарушения непрерывности и взаимного соответствия суставных поверхностей при гонартрозе относили хруст, щелчки при движениях и незначительный околосуставной отек у 45 пациентов основной группы и 48 пациентов группы сравнения. Ограничение движений отмечали у 35% пациентов основной группы и 43% респондентов из группы сравнения.

Рентгенологические симптомы дегенеративно-дистрофического поражения коленного сустава III-IV стадии по классификации J. Kellgren, J. Lawrence наблюдали у всех пациентов. Наиболее достоверным из них считали значительное сужение суставной щели до 2-х мм и более при рентгенографии с нагрузкой в ортопозиции по сравнению со здоровой стороной. Такое сужение указывало на большую утрату СГХ и значительное изменение его эластических свойств в сторону размягчения.

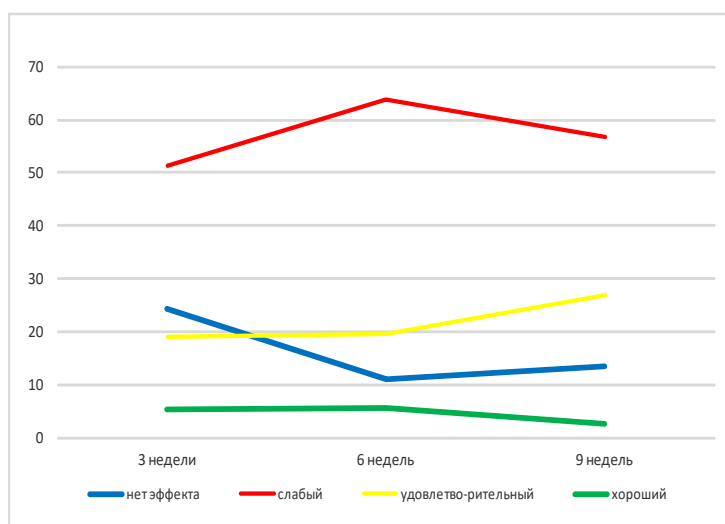
Полный курс назначенного лечения с оценкой его результатов в конечной точке исследования (9 недель) прошли 51 (100 %) пациент основной группы и 51 (100 %) пациент из группы сравнения.

Указанные клинические группы были сравнимы между собой по представительству, основным клинико-морфологическим показателям и отличались лишь методикой лечения гонартроза – внутрисуставным введением ОТП или приемом препаратов из группы НПВС.

По ВШОЭЛ через 3 недели после монотерапии ОТП 30 пациентов (57,9 %) из основной группы указывали на удовлетворительный и хороший результаты, количество которых достоверно возрастало к 9-й неделе наблюдения, после второго и третьего введения ОТП, – на 18,4 % ($p < 0,05$). В группе сравнения число пациентов, отметивших положительный эффект от лечения препаратами из группы НПВС в указанные сроки, увеличилось с исходных 12 (24,31 %) на 5 % (Рисунок 32а и 32б, таблица 12).



а



б

Рисунок 32. Вербальная оценка эффективности лечения у пациентов основной группы (а) и группы сравнения (б) в динамике

**Результаты лечения пациентов основной группы и группы сравнения
по ВШОЭЛ (%)**

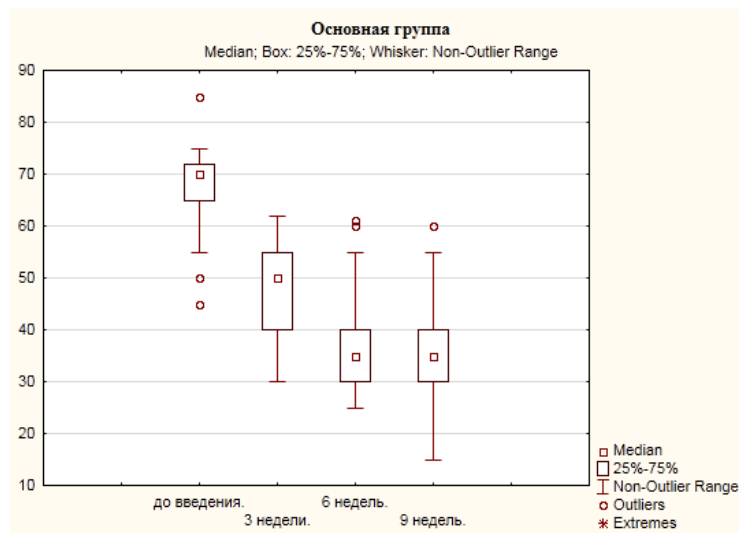
Результат лечения	Нет эффекта		Слабый		Удовлетво- рительный		Хороший		Отличный	
	НПВС	ОТП	НПВС	ОТП	НПВС	ОТП	НПВС	ОТП	НПВС	ОТП
Клиническая группа										
До лечения	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Через 3 недели	24,32	5,26	51,35	36,84*	18,91	44,73*	5,42	13,17	-	-
Через 6 недель	11,11	5,12	63,89	25,64*	19,44	51,28*	5,56	17,96	-	-
Через 9 недель	13,51	2,63	56,75	21,05*	27,02	52,63*	2,72	23,69	-	-

Примечание: Значимость различий ($p < 0,05$) при сравнении показателей: * – по отношению к группе сравнения.

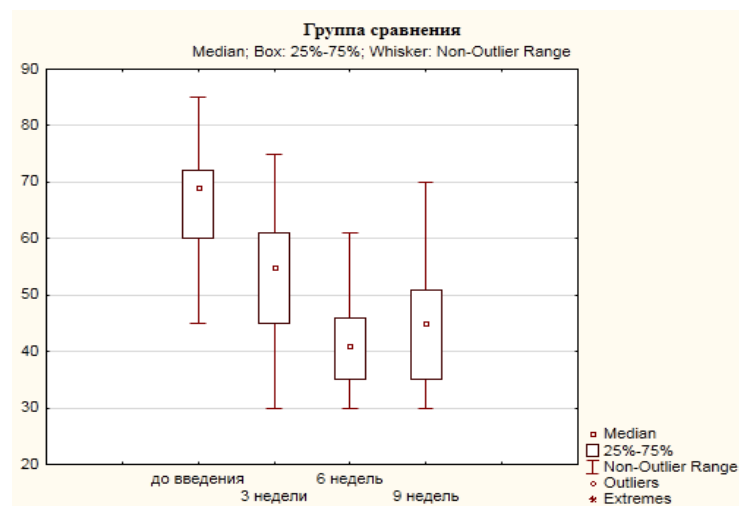
По ВАШ у пациентов, получавших внутрисуставное введение ОТП, наблюдали постепенное снижение интенсивности болевого синдрома с $67,21 \pm 2,74$ до $36,87 \pm 3,01$ мм ($p < 0,05$) после лечения ОТП к 9-й неделе наблюдения. Причем наибольший эффект с уменьшением оценки по ВАШ до $34,89 \pm 3,17$ мм ($p < 0,05$) был достигнут через 6 недель монотерапии ОТП (Рисунок 33а, Таблица 13).

В группе сравнения наиболее значимое снижение интенсивности боли с $65,64 \pm 3,49$ до $42,70 \pm 2,77$ мм ($p < 0,05$) имело место по прошествии 6 недель после применения НПВС оставалось практически неизменным к 9-й неделе наблюдения (Рисунок 33б, таблица 13).

Оценка индекса тяжести гонартроза по шкале Лекена у пациентов основной группы свидетельствовала о некотором улучшении функциональных возможностей коленного сустава после введения ОТП.



а



б

Рисунок 33. Динамика выраженности болевого синдрома у пациентов основной группы (а) и группы сравнения (в) по ВАШ (график «ящик с усами»)

Таблица 13

Выраженность болевого синдрома у пациентов основной группы и группы сравнения по ВАШ (баллы)

Клинические группы	До лечения	3 недели	6 недель	9 недель
Основная группа (ОТП)	67,21 ± 2,74	47,78 ± 3,06*	34,89 ± 3,17**	36,87 ± 3,01**
Группа сравнения (НПВС)	65,64 ± 3,49	51,73 ± 3,80*	42,70 ± 2,77*	46,45 ± 4,02*

Примечание. Значимость различий ($p < 0,05$) при сравнении показателей: * – по отношению к выборке до лечения; ** – по отношению к группе сравнения.

Индекс Лекена имел тенденцию к снижению от 3 к 9 неделе наблюдения с $13,35 \pm 0,60$ до $7,66 \pm 0,64$ баллов ($p < 0,05$) к 9-й неделе наблюдения. (Рисунок 34а, Таблица 14). Положительная динамика общего показателя была связана, главным образом, с уменьшением выраженности болевого синдрома как во время движений, так и в покое. Наиболее заметное снижение индекса Лекена, как и в случае оценки с помощью ВАШ, было достигнуто через 6 недель после монотерапии ОТП. Следует отметить, что 41 пациент (78,8%) полностью отказались от приема НПВС.

У пациентов из группы сравнения изменение индекса тяжести гонартроза происходило более равномерно, чем в основной группе. С 3-й по 9-ю неделю наблюдения индекс Лекена уменьшался с $13,50 \pm 0,41$ до $7,43 \pm 0,39$ баллов ($p < 0,05$) (Рисунок 34б, таблица 14). В то же время достоверных различий между показателями основной и группы сравнения отмечено не было.

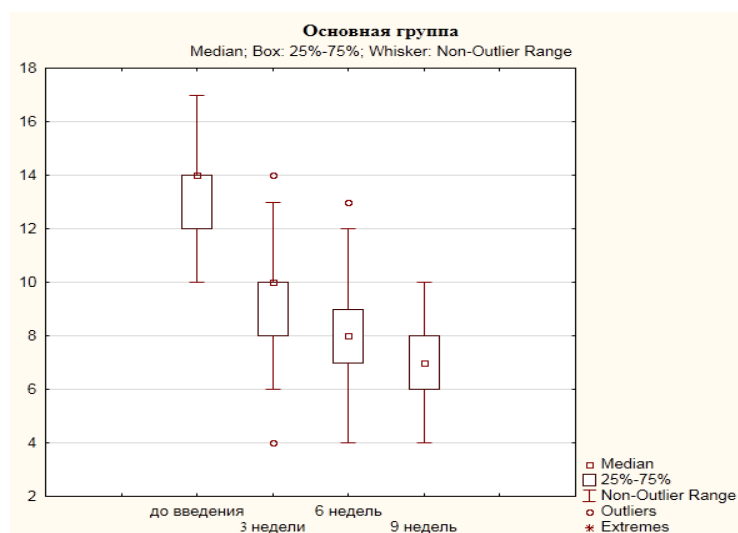
Таблица 14

Оценка результатов лечения пациентов основной группы и группы сравнения по шкале Лекена

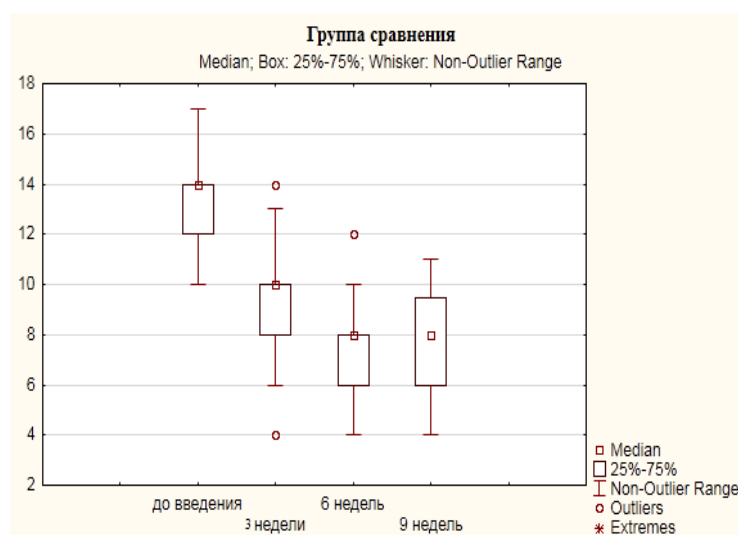
Клинические группы	До лечения	3 недели	6 недель	9 недель
Основная группа (ОТП)	$13,35 \pm 0,60$	$9,70 \pm 0,82^{**}$	$7,56 \pm 0,56^{*}$	$7,66 \pm 0,64^{*}$
Группа сравнения (НПВС)	$13,50 \pm 0,41$	$9,54 \pm 0,56^{*}$	$7,84 \pm 0,42^{*}$	$7,43 \pm 0,39^{*}$

Примечание. Значимость различий ($p < 0,05$) при сравнении показателей: * – по отношению к выборке до лечения; ** – по отношению к группе сравнения.

В ходе лечения ОТП после первой внутрисуставной инъекции 9 (8,9 %) пациентов отмечали небольшое усиление болевого синдрома в коленном суставе, которое проходило без специального лечения в течение нескольких суток и не повторялось при последующих введениях. Других местных осложнений, включая появление или усиление околосуставного отека, синовита, возникновение воспалительного процесса, выявлено не было.



а



б

Рисунок 34. Динамика индекса тяжести гонартроза по шкале Лекена у пациентов основной группы (а) и группы сравнения (б) (график «ящик с усами»)

Лечение ОТП, как и у пациентов с гонартрозом I и II стадией, не оказывало заметного влияния на течение сопутствующих заболеваний внутренних органов и систем (гипертонической болезни, ИБС, сахарного диабета и др.).

В контексте оценки безопасности лечения ОА коленного сустава была отмечена достаточно высокая приверженность к проводимым манипуляциям у пациентов основной группы, каждый из которых завершил курс внутрисуставных инъекций ОТП в полном объеме.

Клинический пример №1.

Пациентка М., 60 лет, 2013 г., наблюдалась в отделении ортопедии с диагнозом «Деформирующий остеоартроз левого коленного сустава III-IV стадии. Болевой синдром».

Предъявляла жалобы на выраженные боли в левом коленном суставе, усиливающиеся при ходьбе, на значительное ограничение опороспособности на левую нижнюю конечность (Рисунок 35а).



а

б

Рисунок 35. Пациентка М., 60 лет, до начала курса терапии:

а - общий вид; б - объем сгибания в коленных суставах

Анамнез. Со слов пациентки, болевой синдром беспокоил около 10 лет. Лечилась самостоятельно и амбулаторно. Принимала большое количество лекарственных препаратов, таких как НПВС (диклак, аэртал, найз и т. п.), хондропротекторы (хондроитин сульфат, глюкозамин сульфат), курс лечебной физкультуры и физиопроцедур (магнитотерапия, парафиновые ванны, электрофорез с йодидом калия). В первые пять лет после описанного курса лечения отмечала значительное снижение болевого синдрома и улучшение функции левого коленного сустава. В дальнейшем лечебный эффект снижался

на непродолжительное время. Последние два года – без значительного улучшения.

Ортопедический статус. Левый коленный сустав несколько отечный, при пальпации периартикулярных тканей значительно болезненный. Функция коленного сустава ограничена, движения значительно болезненные. Визуально-аналоговая шкала – 68 баллов. Пациентка передвигается с помощью дополнительных приспособлений. Опороспособность левой нижней конечности значительно снижена.

Амплитуда движений в коленных суставах снижена, что в большей степени обусловлено выраженным болевым синдромом:

	Слева	Справа	норма
Сгибание/разгибание	90°/0°/0°	100°/0°/5–10 °	120–150°/0°/5–10°
Боковая подвижность	Нет	Нет	нет

Шкала Лекена – 14 баллов.

При рентгенографии выявлено значительное сужение суставной щели, выраженные множественные остеофиты, субхондральный склероз, костные кисты (Рисунок 36, стрелки), что соответствует III-IV стадии гонартроза по классификации J. Kellgren, J. Lawrence.

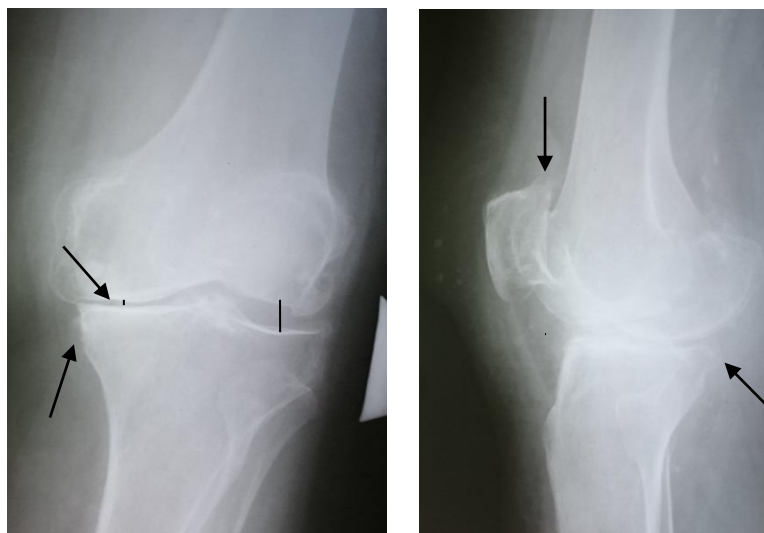


Рисунок 36. Рентгенография левого коленного сустава пациентки М., 60 лет в прямой и боковой проекции (стрелками показаны сужение суставной щели и остеофиты)

Пациентка М., 60 лет, принимала на постоянной основе в течении 1 месяца НПВС по 1 таб 2-3 раза в день.

Через 3 недели после лечения

Пациентка соблюдала предписанные рекомендации, выполняла курс упражнений ЛФК. При контрольном осмотре предъявляла жалобы на боли в области левого коленного сустава. Отмечала, что болевой синдром несколько уменьшился, по 100-балльной ВАШ оценивал в 50 баллов, ночные боли незначительно уменьшились.

Ортопедический статус: пальпация периартикулярных тканей умеренно болезненная. Отечность мягких тканей несколько снизилась. Локальная температура кожных покровов умеренно повышена по сравнению с правым коленным суставом. Пациентка передвигалась с помощью дополнительных опорочников. Объем движений не претерпел значительных изменений. Опороспособность левой нижней конечности без изменений ограничена.

Амплитуда движений в коленных суставах:

	Слева	Справа	норма
Сгибание/разгибание	90°/0°/0°	100°/0°/5–10°	120–150°/0°/5–10°
Боковая подвижность	Нет	Нет	нет

По шкале Лекена – 10 баллов.

Через 6 недель после лечения

Пациентка М. соблюдала предписанные рекомендации, выполняла курс упражнений ЛФК. При контрольном осмотре предъявляла жалобы на боли в области левого коленного сустава. Отмечала, что болевой синдром уменьшился, по 100-балльной ВАШ оценивал в 43 балла, ночные боли уменьшились.

Ортопедический статус: пальпация периартикулярных тканей умеренно болезненная. Отмечалась некоторая отечность мягких тканей левого коленного сустава. Локальная температура кожных покровов была не повышена по сравнению с правым коленным суставом. Пациентка заметила, что по дому стала передвигаться без помощи дополнительных опорочников, но уличные прогулки

были возможны только с использованием трости. Объем движений не претерпел значительных изменений, что обусловлено развитием комбинированной контрактуры сустава, в то же время опороспособность левой нижней конечности улучшилась, хромота уменьшилась, пациент ходит без дополнительных приспособлений.

Амплитуда движений в коленных суставах:

	Слева	Справа	норма
Сгибание/разгибание	95°/0°/0°	105°/0°/5–10 °	120–150°/0°/5–10°
Боковая подвижность	Нет	Нет	нет

По шкале Лекена – 8 баллов.

Через **9 недель** после лечения

Пациентка М. соблюдала предписанные рекомендации, выполняла курс упражнений ЛФК. При контрольном осмотре предъявляла жалобы на умеренные боли в области левого коленного сустава. Отмечала, что болевой синдром существенно не изменился по сравнению с предыдущим осмотром, по 100-балльной ВАШ оценивает в 45 баллов, ночные боли не выражены, существенной динамике не подверглись (Рисунок 36а). Ортопедический статус: пальпация периартикулярных тканей умеренно безболезненная.



Рисунок 36. Пациентка М., 60 лет, через 9 недель после завершения курса лечения: а - общий вид; объем сгибания в коленных суставах

Пациентка аналогичным образом во время уличной прогулки передвигалась с использованием трости. Объем движений не претерпел значительных изменений, опороспособность левой нижней конечности снижена (Рисунок 36б).

Амплитуда движений в коленных суставах:

	слева	Справа	норма
Сгибание/разгибание	100°/0°/0°	105°/0°/5–10°	120–150°/0°/5–10°
Боковая подвижность	Нет	Нет	нет

По шкале Лекена – 8 баллов.

По данным контрольной рентгенографии левого коленного сустава отрицательной динамики не отмечено.

В целом пациентка удовлетворительно перенесла курс лечения НПВС. Каких-либо осложнений выявлено не было. У пациентки с невыраженной положительной динамикой улучшились функциональные возможности левого коленного сустава, особенно выразившиеся в некотором увеличении опороспособности левой нижней конечности (по дому стала передвигаться без использования трости). В тоже время отказа от приема НПВС не произошло. Пациентка практически ежедневно принимала обезболивающие средства после уличной прогулки и перед сном. По ВШОЭЛ пациентка отметила результат терапии НПВС как слабый на всем периоде наблюдения.

Клинический пример2

Пациент Н., 60 лет, № ИБ 1525/348, 2013 г., поступил в отделение ортопедии с диагнозом «Деформирующий остеоартроз левого коленного сустава III-IV стадии. Болевой синдром» (Рисунок 37а).

Пациент Н. предъявлял жалобы на выраженные боли в левом коленном суставе, усиливающиеся при ходьбе, на значительное ограничение опороспособности на левую нижнюю конечность.

Анамнез. Со слов пациента, болевой синдром беспокоил около 10 лет. Лечился самостоятельно и амбулаторно. Принимал большое количество лекарственных препаратов, таких как НПВС (диклак, аэртал, найз и т. п.), хондропротекторы (хондроитин сульфат, глюкозамин сульфат), курс лечебной

физкультуры и физиопроцедур (магнитотерапия, парафиновые ванны, электрофорез с йодидом калия). В первые пять лет после описанного курса лечения отмечал значительное снижение болевого синдрома и улучшение функции левого коленного сустава. В дальнейшем лечебный эффект снижался на непродолжительное время. Последние два года – без значительного улучшения.



а

б

Рисунок 37. Пациент Н., 60 лет, до выполнения курса лечения:

а - общий вид, б – объем сгибания в коленных суставах

Ортопедический статус. Левый коленный сустав несколько отечный, при пальпации периартикулярных тканей значительно болезненный. Функция коленного сустава ограничена, движения значительно болезненные. Визуально-аналоговая шкала – 70 баллов. Пациент передвигается с помощью дополнительных приспособлений. Опороспособность левой нижней конечности значительно снижена (Рисунок 37б).

Амплитуда движений в коленных суставах резко снижена, что в большей степени обусловлено выраженным болевым синдромом:

	слева	Справа	норма
Сгибание/разгибание	70°/0°/0°	120°/0°/5–10 °	120–150°/0°/5–10°

Боковая подвижность	нет	Нет	нет
---------------------	-----	-----	-----

Шкала Лекена – 12 баллов.

При рентгенографии выявлено значительное сужение суставной щели, выраженные множественные остеофиты, субхондральный склероз, костные кисты (Рисунок 38), что соответствует III-IV стадии гонартроза по классификации J. Kellgren, J. Lawrence.

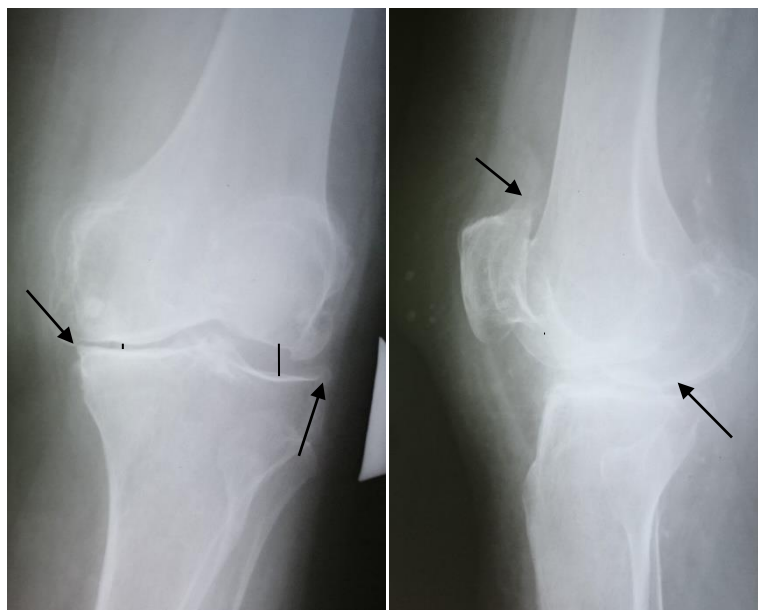


Рисунок 38. Рентгенография левого коленного сустава пациента Н., 60 лет, в прямой и боковой проекциях (стрелками указаны медиальное сужение суставной щели и остеофиты)

Пациенту Н., 60 лет, в асептических условиях выполнены три внутрисуставные инъекции ОТП с периодичностью 1 раз в 3 недели.

Через 3 недели после лечения

Пациент Н., 60 лет соблюдал предписанные рекомендации, выполнял курс упражнений ЛФК. При контрольном осмотре предъявлял жалобы на боли в области левого коленного сустава. Отмечал, что болевой синдром значительно уменьшился, по 100-балльной ВАШ оценивает в 45 баллов, ночные боли значительно уменьшились.

Ортопедический статус: пальпация периартикулярных тканей умеренно болезненная. Отечность мягких тканей несколько снизилась. Локальная температура кожных покровов не повышена по сравнению с правым коленным суставом. Пациент отметил, что в домашних условиях передвигался без использования трости. Объем движений увеличился. Опороспособность левой нижней конечности увеличилась, но все же пациент испытывает необходимость использования дополнительных приспособлений во время уличных прогулок.

Амплитуда движений в коленных суставах:

	Слева	Справа	норма
Сгибание/разгибание	100°/0°/0°	120°/0°/5–10°	120–150°/0°/5–10°
Боковая подвижность	Нет	Нет	нет

По шкале Лекена – 8 баллов.

Через **6 недель** после лечения

Пациент Н., 60 лет соблюдал предписанные рекомендации, выполнял курс упражнений ЛФК. При контрольном осмотре предъявляет жалобы на боли в области левого коленного сустава. Отметил, что болевой синдром значительно уменьшился, по 100-балльной ВАШ оценивает в 35 баллов, ночные боли значительно уменьшились.

Ортопедический статус: пальпация периартикулярных тканей умеренно болезненная. Отмечена некоторая отечность мягких тканей левого коленного сустава. Локальная температура кожных покровов не повышена по сравнению с правым коленным суставом. Пациент заметил отсутствие необходимости использования дополнительных опоручников во время уличных прогулок. Без усиления болевого синдрома может пройти около 300 метров. Объем движений увеличился, в то же время опороспособность левой нижней конечности улучшилась, хромота уменьшилась.

Амплитуда движений в коленных суставах:

	Слева	Справа	норма
Сгибание/разгибание	115°/0°/0°	115°/0°/5–10 °	120–150°/0°/5–10°
Боковая подвижность	Нет	Нет	нет

По шкале Лекена – 6 баллов.

Через **9 недель** после лечения

Пациент Н, 60 лет соблюдал предписанные рекомендации, выполнял курс упражнений ЛФК. При контрольном осмотре предъявляет жалобы на незначительные боли в области левого коленного сустава. Отмечает, что болевой синдром существенно не изменился по сравнению с предыдущим осмотром, по 100-балльной ВАШ оценивает в 40 баллов, ночные боли не выражены, существенной динамики не подверглись (Рисунок 39а).

Ортопедический статус: пальпация периартикулярных тканей умеренно безболезненная. Пациент может пройти до 500 метров по ровной поверхности без усиления боли в пораженном суставе. Объем движений не претерпел значительных изменений, опороспособность левой нижней конечности сохранена, пациент не нуждается в дополнительных приспособлениях во время ходьбы (Рисунок 39б). Амплитуда движений в коленных суставах:

	Слева	Справа	норма
Сгибание/разгибание	115°/0°/0°	115°/0°/5–10°	120–150°/0°/5–10°
Боковая подвижность	Нет	Нет	нет

По шкале Лекена – 7 баллов.



Рисунок 39. Пациент Н., 60 лет, через 9 недель после завершения курса лечения:

а - общий вид, б – объем движений в коленных суставах

По данным контрольной рентгенографии левого коленного сустава отрицательной динамики не отмечено.

В целом пациент хорошо перенес курс лечения ОТП. Каких-либо осложнений как во время внутрисуставных инъекций, так и в отдаленном периоде отмечено не было. У пациента значительно улучшились функциональные возможности левого коленного сустава, особенно выразившиеся в увеличении опороспособности левой нижней конечности и в полном отказе пациента от дополнительных приспособлений во время ходьбы. Необходимость приема НПВП пациентом отпала. По ВШОЭЛ пациент отметил результат терапии ОТП как хороший на всем периоде наблюдения.

Таким образом, лечение пациентов гонартрозом III-IV стадии ОТП сопровождалось более выраженной положительной динамикой в купировании болевого синдрома и улучшением функции коленного сустава в отличие от пациентов из группы сравнения.

Новый способ лечения остеоартроза коленного сустава

Для улучшения результатов лечения пациентов с остеоартрозом коленного сустава III-IV стадии и основываясь на результатах экспериментального исследования у 8 пациентов с ОА коленного сустава III-IV стадии применили последовательное применение ОТП и препарата гиалуроновой кислоты.

Включение в исследуемую группу пациентов с ОА коленного сустава III-IV стадии проводили на основании параметров, отражающих симптомокомплекс при ОА, изложенный в параграфе 3.3.

Среди основных симптомов, выявляемых у пациентов с ОА коленного сустава, выделяли боль, хруст и щелчки при движении в коленном суставе, отек периартикулярных тканей, ограничение движений, атрофию и снижение силы мышц нижней конечности, недостаточность структур КСА.

На боль умеренной выраженные боли указывали все 8 пациентов (100%). Нарушение функции и опороспособности у всех пациентов проявлялось в ограничениях, возникающих при ходьбе на дистанцию до 100 м и связанных, главным образом, с болевыми ощущениями.

Рентгенологические симптомы дегенеративно-дистрофического поражения коленного сустава III-IV стадии по классификации J. Kellgren, J. Lawtence наблюдали у всех пациентов. Наиболее достоверным из них считали значительное сужение суставной щели до 2-х мм и более при рентгенографии с нагрузкой в ортопозиции по сравнению со здоровой стороной. Такое сужение указывало на большую утрату СГХ и значительное изменение его эластических свойств в сторону размягчения.

В результате проведенных исследований с использованием предлагаемого способа у всех из 8 пациентов получен стойкий продолжительный лечебный эффект, снижен болевой синдром и улучшена функция коленного сустава, что в целом повысило качество жизни пациентов.

Клинический пример

Пациент К., 65 лет, 2015 г., Диагноз: Деформирующий остеоартроз левого коленного сустава III-IV стадии. Болевой синдром (Рисунок 40а).



а

б

Рисунок 40. Пациент К., 65 лет, до начала курса лечения:

а - общий вид; б - объем движений в коленных суставах

Пациент К. предъявлял жалобы на выраженные боли в левом коленном суставе, усиливающиеся при ходьбе, на значительное ограничение опороспособности на левую нижнюю конечность (Рисунок 40б).

Анамнез. Со слов пациента, болевой синдром беспокоил около 20 лет. Лечился самостоятельно и амбулаторно. Принимал большое количество лекарственных препаратов, таких как НПВС (найз, аэртал, и т. п.), хондропротекторы (хондроитин сульфат, глюкозамин сульфат), курс ВСТ, курс лечебной физкультуры и физиопроцедур (магнитотерапия, парафиновые ванны, электрофорез с йодидом калия). В первые 8 лет после описанного курса лечения отмечал значительное снижение болевого синдрома и улучшение функции левого коленного сустава. В дальнейшем лечебный эффект снижался на непродолжительное время. Последние 4 года – без значительного улучшения.

Ортопедический статус. Левый коленный сустав несколько отечный, при пальпации периартикулярных тканей значительно болезненный. Функция коленного сустава ограничена, движения значительно болезненные. Визуально-аналоговая шкала – 75 баллов. Пациент передвигается с помощью дополнительных приспособлений. Опороспособность левой нижней конечности значительно снижена.

Амплитуда движений в коленных суставах снижена, что в большей степени обусловлено развитием комбинированной контрактуры сустава:

	Слева	справа	Норма
Сгибание/разгибание	85°/0°/0°	110°/0°/5–10 °	120–150°/0°/5–10°
Боковая подвижность	Нет	нет	Нет

Шкала Лекена – 14 баллов.

При рентгенографии выявлено значительное сужение суставной щели, выраженные множественные остеофиты, субхондральный склероз, костные кисты (Рисунок 41), что соответствует III-IV стадии гонартроза по классификации J. Kellgren, J. Lawrence.

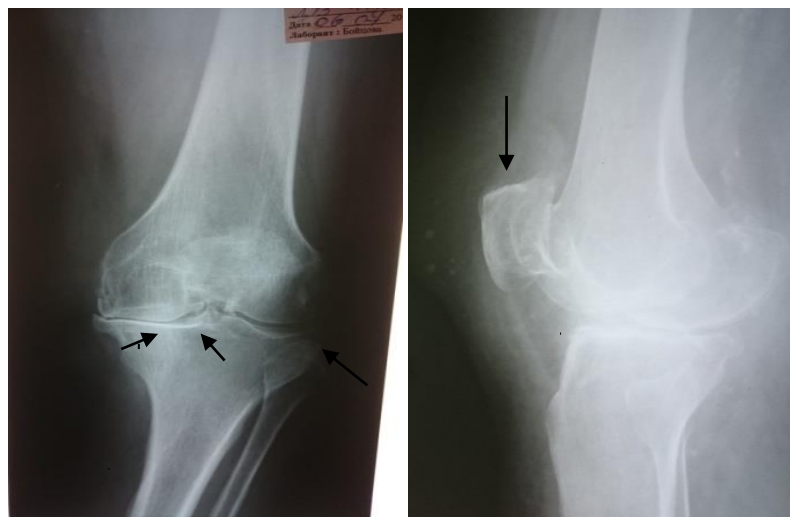


Рисунок 41. Рентгенография левого коленного сустава пациента К, 65 лет, в прямой и боковой проекциях (стрелками показаны сужение суставной щели, остеофиты)

Пациенту К., 65 лет, в асептических условиях выполнены одна внутрисуставная инъекция ОТП, дополнительно к которой дважды через неделю, вводили препарат гиалуроновой кислоты. Через 1 месяц после проведенного лечения у пациента отмечено выраженное снижение болевого синдрома по ВАШ до 20 баллов и улучшение функции коленного сустава по шкале Лекена до 4 баллов (Рисунок 42а и 42б).



а

б

Рисунок 42. Пациент К., 65 лет, через 1 месяц после завершения курса лечения:
а - общий вид; б - объем движений в коленных суставах

В итоге пациент хорошо перенес курс предложенного лечения. Каких-либо осложнений как во время внутрисуставных инъекций за период наблюдения отмечено не было. У пациента значительно улучшились функциональные возможности левого коленного сустава, особенно выразившиеся в увеличении опороспособности левой нижней конечности и в полном отказе пациента от дополнительных приспособлений во время ходьбы. Необходимость приема НПВП пациентом отпала. По ВШОЭЛ пациент отметил результат терапии ОТП как хороший.

В целом предложенный способ оказал положительное влияние на течение остеоартроза коленного сустава. Оценка его эффективности будет проведена нами в будущих работах.

4.3. Оценка эффективности лечения пациентов с остеоартрозом коленного сустава I-II и III-IV стадии с позиции доказательной медицины

После применения ОТП и препаратов ГК у пациентов с остеоартрозом коленного сустава I-II стадии показатели шкалы Лекена стабилизировались уже к первому месяцу наблюдения: достигли своих минимальных значений и существенно не подверглись достоверным изменениям в течение 12 месяцев наблюдения.

Благоприятные исходы лечения пациентов путем внутрисуставного введения ОТП через 1 месяц зарегистрированы у 21 пациента, в то же время после применения препарата ГК только у 17 пациентов.

На основании полученных числовых данных рассчитаны следующие показатели доказательной медицины и их 95%-й доверительный интервал. Внутрисуставное введение ОТП позволило снизить относительный риск развития неблагоприятного исхода на 30,8 % (относительный риск – 0,692; доверительный интервал – 0,350–1,370).

Повысить относительный риск благоприятного исхода на 123,5 %

(относительная польза – 1,235; доверительный интервал – 0,836–1,826).

Увеличить вероятность благоприятного исхода в 1,784 раза (отношение шансов – 1,784; доверительный интервал – 0,616–5,169).

Число пациентов, которых необходимо лечить каждым исследуемым способом для предотвращения неблагоприятного исхода у одного больного, оказалось равным 7,5.

Полученные результаты исследования убедительно показывают преимущество лечения пациентов путем внутрисуставного введения ОТП по сравнению с препаратами ГК. Монотерапия ОТП эффективно снижает выраженность болевого синдрома и улучшает функциональные возможности коленного сустава пациентов с ОА коленного сустава I–II стадии в течение 12 месяцев наблюдения.

После применения ОТП у пациентов с остеоартрозом коленного сустава III–IV стадии благоприятные исходы лечения пациентов путем внутрисуставного введения ОТП через 9 недель после оценки показателей шкалы Лекена отмечены у 37 пациентов, в то же время в группе сравнения положительного результата удалось достичь только у 22 пациентов.

На основании полученных числовых данных рассчитаны следующие показатели доказательной медицины и их 95%-й доверительный интервал. Внутрисуставное введение ОТП у пациентов с гонартрозом III–IV стадии по сравнению с пероральным или местным применением НПВС позволило снизить относительный риск развития неблагоприятного исхода на 50% (снижение относительного риска – 0,5; доверительный интервал – 0,307–0,813).

Повысить относительный риск развития благоприятного исхода на 68,2 % (относительная польза – 1,682; доверительный интервал – 1,172–2,414),.

Увеличить вероятность развития благоприятного исхода в 3,364 раза (отношение шансов – 3,364; доверительный интервал – 1,490–7,591).

Число пациентов, которых необходимо лечить каждым исследуемым способом для предотвращения неблагоприятного исхода у одного больного, оказалось равным 3,467 человек.

Полученные результаты исследования убедительно доказывают преимущество лечения пациентов путем внутрисуставного введения ОТП по сравнению с НПВС. Применение ОТП у пациентов с остеоартрозом коленного сустава III–IV эффективно снижает болевой синдром и улучшает функцию коленного сустава в течение 9 недель наблюдения.

Применение последовательного введения ОТП и препарата гиалуроновой кислоты на экспериментальном уровне продемонстрировало хондропротективный эффект. Использование предложенного способа у пациентов с ОА коленного сустава III–IV стадии показало выраженное снижение болевого синдрома, что аналогичным образом позволяет рекомендовать как применение ОТП, так и последовательное применение ОТП и препарата ГК у пациентов с выраженным болевым синдромом, страдающих гонартрозом III–IV стадии, с целью отмены приема НПВС в случае невозможности их применения в силу сопутствующей патологии и в качестве подготовки пациентов к реконструктивным операциям на коленном суставе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На сегодняшний день заболеваемость ОА коленного сустава имеет высокое социально-экономическое значение для населения России, о чем свидетельствуют данные эпидемиологических исследований. [4, 8-12, 14, 30, 33, 34, 39, 42, 43, 50, 52, 62, 65, 118, 127, 130, 164, 168, 234, 248]. В тоже время отсутствие эффективных методов лечения диктуют необходимость поиска и разработки новых способов терапии заболевания. [5, 40, 76, 142, 186, 224, 239] Перспектива возможности управления течением воспалительного и репаративного процесса, нашла свое отражение в работах, посвященных аутологичной обогащенной тромбоцитами плазме [53, 54, 131, 171]. На сегодняшний день в достаточно большом количестве клинических исследований отмечена ее выраженная эффективность в лечении пациентов с ОА коленного сустава. В тоже время остается открытым вопрос о показаниях к применению, дозировке и кратности внутрисуставного введения ОТП, способах ее получения, а результаты экспериментальных исследований немногочисленны, противоречивы, что в общей совокупности определило цель нашей работы.

Целью работы было улучшение результатов консервативного лечения пациентов с остеоартрозом коленного сустава путем применения экспериментально обоснованной методики внутрисуставного введения аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы.

Общеизвестно, что патогенетическая терапия направлена на основные и ведущие звенья патогенеза, которые обычно декларируются в процессе экспериментального изучения патологии. При этом чрезвычайно важно выбрать адекватную модель ОА.

Моделирование – важная часть многих экспериментальных исследований. На сегодняшний день существует много способов моделирования ОА, но ни

один из них не является идеальным. Так, S. Guner и соавт. (2012) моделировали экспериментальный ОА коленного сустава путем внутрисуставного введения раствора формалина крысам [134]. В результате, происходил тотальный единовременный некроз СГХ и других внутрисуставных структур: синовиальной оболочки, ткани менисков, связок и т. п. В дальнейшем у животных развивался вторичный ОА коленного сустава.

С помощью раствора коллагеназы индуцировали ОА коленного сустава у крыс D. R. Kwon и соавт. (2012). В данном случае происходило агрессивное повреждение всех внутрисуставных анатомических образований, но в меньшей степени, нежели после введения раствора формалина. Аналогичным образом в последующем развивался воспалительный процесс [169]. Подобный результат получали и A. M. Malfait и соавт. (2013) после введения хлорйодацетата [172].

Пересечение передней крестообразной связки, удаление менисков и хирургическое открытое повреждение СГХ, безусловно, вызывало развитие вторичного посттравматического ОА коленного сустава [106, 204].

J. U. Carmona и соавт. (2007) проводили экспериментальное исследование с участием возрастных лошадей, имевших проявления ОА коленных суставов [79]. В данном случае модель наиболее полно отражала суть идиопатического ОА, хотя некоторые животные могли ранее получать какие-либо травмы сустава.

Задачей нашего исследования являлось моделирование идиопатического ОА или приближенного к нему состояния, которое бы позволяло проводить клинико-экспериментальные параллели.

При идиопатическом ОА, как известно, вначале происходят микроструктурные изменения СГХ с дальнейшим его повреждением и одновременным развитием воспалительного процесса. Моделирование ОА путем введения «инородного тела», например 10%-й суспензии стерильного талька, вызывает воспалительный процесс, который легко переходит в хронический, а частицы вещества маленького размера повреждают СГХ в незначительной степени, не приводя к грубым нарушениям биомеханики сустава, что в большей степени отражает течение именно первичного ОА. Кроме этого,

внутрисуставное введение раствора стерильного талька – доступная и легко воспроизводимая экспериментальная модель [24].

Следующим вопросом, требовавшим решения для реализации эксперимента, являлся выбор животного. Общеизвестно, что у половозрелых крыс генетически и морфологически ткани коленного сустава достаточно схожи с таковыми у человека.

Таким образом, наиболее подходящими экспериментальными животными оказались половозрелые крысы, а оптимальным способом моделирования ОА признано внутрисуставное введение 0,2 мл 10%-го раствора стерильного талька.

В ходе эксперимента после внутрисуставного введения 10%-го раствора стерильного талька в коленные суставы животным через 4 недели в микроскопических препаратах наблюдали снижение толщины СГХ и объемной доли хондроцитов, что свидетельствовало о развитии гонартроза. Воспалительный процесс развивался в тканях суставов параллельно с деструктивными изменениями гиалинового хряща, что подтверждало адекватность используемой нами экспериментальной модели. Формирующиеся морфологические признаки после моделирования ОА коленного сустава позволили использовать выбранный опыт для апробации лечения.

После моделирования экспериментального ОА животные были разделены на три группы, в которых осуществляли внутрисуставное введение ОТП, ГК или совместное последовательное введение ОТП и ГК.

Полученные в ходе экспериментального исследования результаты выявили некоторое преимущество в эффективности биологического воздействия ОТП над препаратами ГК. Последнее заключалось в значительном уменьшении выраженности деструктивных изменений в гиалиновом хряще и одновременном усилении репаративного процесса с восстановлением формы суставной поверхности. После применения ОТП, а также совместного последовательного введения ОТП и ГК толщина СГХ увеличивалась более чем в два раза. В то же время в основной группе №1 (внутрисуставное введение ОТП) объемная доля хондроцитов возрастала в среднем до 18%, а в основной группе №3 (совместное

последовательное введение ОТП и препарата ГК) – до 12%. Хондроциты в препаратах, полученных у животных указанных экспериментальных групп, располагались в правильном порядке, а межклеточный матрикс обильно насыщался глюкозаминогликанами.

Данные морфологического исследования препаратов, полученных у животных с экспериментальным ОА на фоне применения ГК, также демонстрировали некоторое снижение воспалительной реакции в коленных суставах животных с одновременным усилением репаративного процесса в гиалиновом хряще. Толщина СГХ возрастала в среднем до 264 мкм, что на 11 мкм меньше, чем в основной группе № 1 (введение ОТП), и достоверно не отличалась от основной группы № 3 (совместное последовательное введение ОТП и ГК). Объемная доля хондроцитов составила 11,6 %, что на 7 % меньше, чем показатели основной группы № 1, и достоверно опять же не отличалась от основной группы № 3.

Результаты гистохимического исследования препаратов суставной поверхности у животных с экспериментальным ОА (опытная группа № 2) косвенно указывали на уменьшение уровня гликопротеинов и ГК. После введения ГК животным основной группы № 2 гистохимическое окрашивание препаратов по Маллори выявляло меньшее, по сравнению с основными группами № 1 (введение ОТП) и № 3 (совместное последовательное введение ОТП и ГК), насыщение глюкозаминогликанами.

В целом полученные данные морфологического, гистохимического исследований свидетельствовали, что введение ОТП или совместное последовательное введение ОТП и ГК обладали выраженным хондропротективным действием.

Важное значение в оценке эффективности применения ОТП имели показатели активности ММП-1 и ММП-13. После моделирования ОА было отмечено резкое увеличение активности указанных металлопротеиназ (почти в 3 раза). В последующем ни одно из вводимых в коленный сустав веществ не оказывало существенного влияния на активность ММП-13. В то же время

препараты ГК в значительной степени снижали активность ММП-1 (почти в 3 раза), в отличие от введения ОТП или совместного последовательного введения ОТП и ГК, которые уменьшали её активность почти в 2 раза.

Отмеченные изменения в спектре активности металлопротеиназ не вступали в противоречие с данными ряда фундаментальных исследований о влиянии ГК как ингибитора экссудации, образования провоспалительных медиаторов и как составляющей метаболизма матрикса суставного хряща. Согласно этим исследованиям, экзогенная ГК снижала уровень апоптоза хондроцитов с одновременным усилением их пролиферации, стимулировала выработку коллагена, протеогликанов и насыщение им гиалинового хряща, проявляя тем самым хондропротективный эффект [95, 108, 119, 140, 143, 162]. Помимо этого препараты гиалуроновой кислоты обладали способностью опосредованно через рецепторы CD₄₄, подавлять выработку провоспалительных цитокинов, ММП и других ферментов [140, 143, 147], чем и было обусловлено выраженное снижение активности ММП-1 в основной группе № 2 (введение ГК).

Биологические эффекты применения ГК в определенной степени зависели от молекулярной массы препарата и его концентрации. В нашем исследовании был использован препарат ГК с молекулярной массой 3 600 кДа, относящийся к среднемолекулярным препаратам гиалуроновой кислоты, сочетающим в себе как способность проникновения в межклеточное вещество гиалинового хряща, так и амортизирующее и смазочное воздействие на контактирующие суставные поверхности [94, 140, 149].

В нашем исследовании, как и в других экспериментальных работах, ГК способствовала активному подавлению фазы экссудации воспалительного процесса и тем самым нормализации синовиальной среды суставов. Однако репаративные процессы на фоне введения ГК протекали с меньшей степенью выраженности, чем после применения ОТП или совместного последовательного введения ОТП и ГК. В двух последних случаях происходило достоверное увеличение уровня гликопротеинов и ГК в гиалиновом хряще, а также снижение

количества хондроцитов, экспрессирующих ММП-1 и ММП-13. Причем уровень ММП-1 уменьшался в меньшей степени, чем на фоне введения ГК.

Полученные результаты в группах животных, которым в сустав вводилась ОТП или ОТП и ГК, отличались от таковых в группе с ГК. Эти отличия, на наш взгляд, были обусловлены разнонаправленным воздействием ОТП, и в первую очередь, за счет содержащихся в ней факторов роста. Выраженное влияние на репаративные процессы в суставе обусловлено способностью тромбоцитов воздействовать на воспаление, стимулировать ангиогенез и анаболическое действие.

Содержащиеся в тромбоцитах вещества влияют на трансэндотелиальную миграцию и активацию лейкоцитов, макрофагов, что обуславливает степень выраженности и продолжительность воспалительного ответа [67, 126].

ОТП может подавлять воспаление, при этом восстанавливая клетки по невоспалительному фенотипу. Это может быть обусловлено различными ростовыми факторами, в том числе и гепатоцитарным фактором роста (HGF), VEGF и трансформирующим фактором роста бета (TGF- β), обеспечивающим барьерную функцию эндотелия [73, 153, 155, 211, 222, 223, 229]. Помимо противовоспалительного эффекта, ОТП обладает хондропротективным действием. В отдельных исследованиях было высказано предположение, что хондропротективный эффект ОТП обусловлен анаболическим действием плазмы и подавлением активности металлопротеиназ. Высокий уровень множества факторов роста значительно стимулирует образование собственного коллагена и усиливает репаративные процессы [73]. Установлено, что факторы роста, опосредованно стимулируют экспрессию ТИМП, что, в свою очередь, имеет влияние на активность ММП-1 и, возможно, ММП-13 [73].

В нашем исследовании ОТП снижала интенсивность экспрессии ММП-1, количество клеток, экспрессирующих ММП-1, увеличилось что, очевидно, связано с их участием в ремоделировании СГХ. Доказательством чего, является увеличение толщины СГХ, объемной доли хондроцитов. В тоже время активность ММП-13 после применения ОТП оставалась неизменно высокой. Судя по всему,

большое количество клеток, экспрессирующих ММП-1 и ММП-13 на фоне невыраженной их экспрессии, обуславливают выраженное протекание репаративных процессов.

Таким образом, результаты представленного экспериментального исследования свидетельствовали о выраженном положительном воздействии ОТП и ГК на течение ОА, которое в большей степени было выражено после внутрисуставного введения ОТП или совместного последовательного введения ОТП и ГК.

Заметное положительное влияние ОТП на течение ОА коленного сустава показала и проведенная **клиническая часть исследования**.

Для изучения влияния ОТП на течение ОА коленного сустава в исследование были включены пациенты, соответствующие критериям включения и исключения, и в отношении которых были соблюдены требования Хельсинской декларации 1975 г., пересмотренной в 2008 г., и разрешения этического комитета ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава РФ от 2013 г. на проведение клинического исследования «Обогащенная тромбоцитами аутологичная плазма в лечении пациентов с остеоартрозом коленного сустава (клинико-экспериментальное исследование)».

Разделение пациентов на отдельные группы основывалось на комплексе клинических, лабораторных и инструментальных методов исследования. Основной целью указанных методов являлась объективизация степени деструкции хрящевой поверхности, нарушения функции коленного сустава и изменения физической активности пациентов.

Несмотря на различия в течении и выраженности ОА коленного сустава, исследуемые группы пациентов были достаточно близки и сопоставимы по клинико-морфологическим проявлениям заболевания и гендерно-возрастным характеристикам. Указанная однородность в составе исследуемых групп отвечала требованиям, предъявляемым к клиническим и лабораторным исследованиям.

Сопоставление возрастных характеристик основной группы и группы сравнения пациентов с ОА I–II стадии по J. Kellgren, J. Lawtence показало, что в той и другой преобладали женщины в возрасте от 40 до 55 лет, с индексом массы тела от 27 до 30. В группе пациентов с ОА III–IV стадии по J. Kellgren, J. Lawtence преобладали женщины в возрасте от 50 до 70 лет, с индексом массы более 30.

В основной группе (введение ОТП) пациентов с ОА I–II стадии на момент начала лечения показатель ВАШ составлял в среднем 50,8 мм без достоверных отличий от показателя в группе пациентов, которым планировалось внутрисуставное введение препарата ГК – 47,6 мм соответственно. Индекс Лекена колебался в обеих группах в пределах 9,9–10,7, также без достоверных отличий друг от друга. В группах пациентов с ОА III–IV стадии показатель ВАШ аналогичным образом достоверно не отличался и составил 67,2 мм в основной и 65,6 мм в группе сравнения. Индекс Лекена был практически идентичным в основной и группе сравнения: 13,4 и 13,5 баллов соответственно.

По данным рентгенологического исследования 60 пациентов страдали ОА I–II стадии и 75 пациентов – ОА III–IV стадии.

Результаты проведенного нами исследования с участием 60 пациентов с ОА I–II стадии (основная группа – ОТП, группа сравнения – ГК) показали, что вводимая в сустав ОТП обладает обезболивающим действием (интенсивность болевого синдрома по ВАШ уменьшалась в 5 раз через 1 месяц, а регресс был выражен в значительно большей степени, чем после лечения препаратом ГК). Положительная динамика в отношении боли продолжала сохраняться до 3 месяцев наблюдения, а к 1-му году показатели несколько ухудшались, возвращаясь к уровню начальной оценки (1 месяц) без достоверных различий с последним.

Судя по результатам ВШОЭЛ, хороший результат более чем на 20 % через 1 месяц после завершения лечения отмечали пациенты из основной группы (ОТП). Ухудшение в субъективных оценках первоначально достигнутых результатов происходило постепенно к 3-му и 6-му месяцам и 1 году, однако и

в отдаленные сроки наблюдения положительный эффект лечения, соответствующий уровню хорошего результата, продолжали ощущать на 20 % больше пациентов из основной группы, чем из группы сравнения.

Прекращение или снижение выраженности болевого синдрома, отмеченное с помощью ВАШ, положительно сказывалось на функциональных возможностях коленного сустава, характеризующихся динамикой индекса Лекена. Происходило почти трехкратное уменьшение его через 1 месяц после завершения лечения и незначительное последующее увеличение к 3, 6 месяцам и 1 году наблюдения без достоверных различий между показателями внутри групп. При этом изменения индекса Лекена выглядели более предпочтительными по сравнению с таковыми у пациентов, проходивших лечение препаратом ГК, как в ближайшие, так и в отдаленные сроки наблюдения. Достоверные отличия показателей болевого синдрома у пациентов с ранней стадией ОА основной группы и группы сравнения с использованием ВАШ и шкалы Лекена были следующие: на 3-м месяце наблюдений отмечалась достоверно меньшая выраженность боли у пациентов основной группы по ВАШ и шкале Лекена, на 3-м, 6-м и 12-м месяцах – по шкале Лекена.

Введение плазмы в нашем исследовании не оказывало заметного влияния на течение гипертонической болезни, которой страдал среднестатистический пациент, включенный в данное исследование. Пациенты продемонстрировали высокую приверженность к лечению и завершили весь курс введения ОТП, что также являлось одним из косвенных аргументов в пользу изучаемой методики.

Выявленная эффективность ОТП у пациентов с ранними стадиями ОА создала предпосылки к проведению подобного клинического исследования и у пациентов с поздними стадиями заболевания.

Как известно, до настоящего времени остается нерешенным ряд проблем в лечении пациентов с ОА, среди которых первостепенное значение имеют боль и синовит. Указанные симптомы не всегда поддаются коррекции назначением известных групп лекарственных средств (НПВС, кортикостероиды), особенно при поздних стадиях заболевания [111, 207]. Между тем большинство обезболивающих

и противовоспалительных препаратов характеризуются зависимыми от длительности применения побочными эффектами воздействия на различные органы и системы. Некоторые пациенты не переносят НПВС или не могут использовать их в силу сопутствующих заболеваний внутренних органов [3, 5, 25].

Рабочей гипотезой нашего второго клинического исследования явилось предположение о возможном (частичном или полном) решении указанных проблем с помощью более безопасного и в то же время более эффективного для пациентов способа лечения ОА коленного сустава III–IV стадий – внутрисуставного введения аутологичной ОТП. В отличие от обогащенной тромбоцитами аутологичной плазмы НПВС в большей степени влияют на фазу экссудации. Самые мощные представители этого класса лекарственных средств, такие как диклофенак, индометацин и т. п., воздействуют и на фазу пролиферации, но в значительно меньшей степени, чем на экссудацию. Следует обратить особое внимание на то, что, купируя болевой синдром и явления синовита, НПВС сдерживают дегенеративно-дистрофических изменений в хряще и кости. Существующие исследования показывают, что длительный прием НПВС может способствовать прогрессированию дегенерации хряща. В то же время на сегодняшний день только прием индометацина доказано усиливает дегенерацию хряща и прогрессирование патологического процесса в суставах. Наличие отрицательного действия НПВС в отношении прогрессирования ОА для других препаратов этой группы пока остается открытым [3,5,25, 103, 136, 165].

Сопоставление возрастных характеристик 102 пациентов с ОА III–IV стадии, разделенных на основную группу (ОТП) и группу сравнения (НПВС), выявило преобладание женщин в возрасте от 50 до 70 лет с индексом массы тела более 30. Показатели ВАШ достоверно не отличались друг от друга и составляли 67,2 мм в основной и 65,6 мм в группе сравнения. Данные по шкале Лекена были практически идентичными: 13,4 и 13,5 балла соответственно в основной группе и группе сравнения.

Результаты нашего исследования показали эффективность использования внутрисуставного введения ОТП у пациентов с поздними стадиями гонартроза.

По ВШОЭЛ, количество респондентов, указавших на хороший и удовлетворительный результаты лечения, оказалось почти в 7 раз больше, чем в группе сравнения, что само по себе уже заслуживало внимание. Вводимая в сустав ОТП оказывала обезболивающее действие, что подтверждала оценка по ВАШ с достоверно лучшими результатами через 6 и 9 недель.

У пациентов с III–IV стадией гонартроза уменьшение выраженности болевого синдрома происходило путем кумуляции от первой инъекции к последней с наибольшей положительной динамикой уже после первого введения. Субъективное ощущение обезболивания в группе ОТП к моменту завершения исследования изменилось на 4 балла по сравнению с аналогичным уменьшением на 2 балла у пациентов, принимавших препараты из группы НПВС. Динамика показателей по шкале Лекена за весь период наблюдения в значительной степени приближалась к таковой по ВАШ, поскольку основным критерием оценки в обеих шкалах являлся болевой синдром. Тем не менее уменьшение индекса тяжести гонартроза с 14 до 8 баллов свидетельствовало и о некотором улучшении функциональных возможностей коленного сустава. Тенденция к снижению индекса Лекена сохранялась от первой до третьей инъекции включительно, то есть на протяжении 9 недель, что подчеркивало зависимость достигаемого эффекта от кратности введения ОТП. Однако наиболее значимые изменения показателя констатировали в первые 3 недели после первой инъекции плазмы.

Таким образом, ОТП оказывала положительное влияние, заключающееся в значительном снижении болевого синдрома и улучшении функциональных возможностей коленного у пациентов с поздними стадиями ОА: 41 пациент (78,8%) практически полностью отказывался от приема НПВП на весь период лечения ОТП.

В ходе лечения ОТП мы не встретили каких-либо осложнений и побочных эффектов, кроме незначительного усиления болевых ощущений в коленном суставе у 9 (5,6) пациентов. Эти ощущения проходили без дополнительных назначений в течение нескольких суток после первой инъекции. Подобное

явление было отмечено и в ряде других клинических работ [109, 110, 112-116, 230].

Наблюдение за пациентами основной группы не выявило раздражающего сустав действия ОТП, проявляющегося возникновением или усилением околосуставного отека, синовита. Напротив, указанные проявления заболевания имели некоторую тенденцию к регрессии.

Введение плазмы не оказывало заметного влияния на течение сопутствующих заболеваний внутренних органов, двумя и более из которых страдал среднестатистический пациент, включенный в данное исследование. Большинство пациентов (95 %) продемонстрировали высокую приверженность к лечению и завершили весь курс введения ОТП, что также являлось одним из косвенных аргументов в пользу изучаемой методики.

Преимущество ОТП над другими методиками выявил и анализ клинических исходов с позиции доказательной медицины. Так, у пациентов с ОА коленного сустава I–II стадии внутрисуставное введение ОТП позволило снизить относительный риск развития неблагоприятного исхода на 30,8 %, повысить относительный риск благоприятного исхода на 23,5 % и увеличить вероятность благоприятного исхода в 1,784 раза. В то время как у пациентов с гонартрозом III–IV стадии относительный риск развития неблагоприятного исхода снизился на 50 %, относительный риск развития благоприятного исхода увеличился на 68,2 %, а вероятность развития благоприятного исхода возросла в 3,364 раза.

Таким образом, в ходе эксперимента удалось выбрать и освоить методику моделирования экспериментального ОА коленного сустава, патогенетически максимально приближенному к таковому у человека, и изучить влияние монотерапии ОТП. Данные эксперимента свидетельствуют о достоверном увеличении толщины СГХ и количества хондроцитов, улучшении тинкториальных свойств матрикса хрящевой ткани. Наблюдение за динамикой активности металлопротеиназ, позволило зарегистрировать возрастание числа клеток, экспрессирующих ММП-1 с параллельным снижением интенсивности ее экспрессии, с неизменно высокими показателями активности ММП-13, что

обуславливает выраженные репаративные процессы СГХ после применения ОТП. В целом результаты нашего экспериментального исследования позволяют говорить о выраженном хондропротективном действии ОТП. Данные нашего клинического исследования позволяют доказано констатировать положительный эффект внутрисуставного введения ОТП у пациентов с ОА коленного сустава как на ранних, так и на поздних стадиях течения заболевания. А совместное последовательно введение ОТП и ГК позволяет улучшить результаты лечения пациентов с ОА коленного сустава III-IV стадии. В совокупности результаты нашего клиническо-экспериментального исследования позволяют рекомендовать методику внутрисуставного введения ОТП для применения в клинической практике у пациентов с ОА коленного сустава I-II и III-IV стадий.

ВЫВОДЫ

1. Моделирование остеоартроза коленного сустава у крыс в эксперименте сопровождается снижением толщины суставного гиалинового хряща до $121,0 \pm 20,4$ мкм, объемной доли хондроцитов до $1,2 \pm 0,6\%$; значимым увеличением удельного числа хондроцитов, экспрессирующих ММП-1 до $73,0 \pm 3,2\%$ и ММП-13 до $95,0 \pm 2,1\%$ с выраженной интенсивностью их экспрессии (+++).

2. Применение аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы по сравнению с монотерапией препаратом гиалуроновой кислоты, а также их совместным применением, обладает наиболее выраженным хондропротективным действием, проявляющимся увеличением толщины суставного гиалинового хряща до $275,0 \pm 18,9$ мкм, объемной доли хондроцитов до $18,4 \pm 2,0\%$, снижением интенсивности экспрессии ММП-1 до ++, на фоне возрастания числа клеток, экспрессирующих ММП-1 до $82,0 \pm 2,7\%$ и неизменно высокого уровня показателей активности ММП-13.

3. Разработан и обоснован в эксперименте на животных новый способ лечения остеоартроза коленного сустава, заключающийся в последовательном внутрисуставном введении аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы и препарата гиалуроновой кислоты.

4. Внутрисуставное введение аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы при лечении пациентов с остеоартрозом коленного сустава I–II стадии позволяет уже через 1 месяц после окончания лечения уменьшить выраженность болевого синдрома до $9,6 \pm 2,41$ балла по ВАШ и улучшить функцию коленного сустава до $3,93 \pm 0,54$ балла по шкале Лекена, что почти в два раза эффективнее результатов монотерапии препаратом гиалуроновой кислоты, и сохранить эти результаты на протяжении 12 месяцев наблюдений за пациентами.

5. Применение аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы при лечении больных с остеоартрозом коленного сустава III–IV стадии позволяет уменьшить выраженность болевого синдрома до $34,89 \pm 3,17$ баллов по ВАШ, улучшить функцию коленного сустава до $7,56 \pm 0,56$ балла по шкале Лекена к 6 неделе после окончания курса лечения.

6. Использование обогащенной тромбоцитами плазмы при лечении пациентов с остеоартрозом коленного сустава I–II стадии позволило снизить относительный риск неблагоприятного исхода на 30,8%, увеличить относительную пользу на 123,5%; у пациентов с остеоартрозом коленного сустава III–IV стадии снизить относительный риск неблагоприятного исхода на 50%, увеличив относительную пользу на 68,2% .

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Монотерапию путем внутрисуставного введения аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы целесообразно применять у пациентов с остеоартрозом коленного сустава I-II стадии с выраженным болевым синдромом (более 30 баллов по ВАШ), с эпизодами обострения заболевания на фоне проводимого лечения.
2. У пациентов, страдающих остеоартрозом коленного сустава III-IV стадии, внутрисуставное введение аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы необходимо применять при выраженном болевом синдроме (более 40 баллов по ВАШ) для отмены постоянного приема НПВС ввиду сопутствующей патологии, или же в качестве подготовки к реконструктивным операциям на коленном суставе.
3. Новый способ лечения остеоартроза коленного сустава, заключающийся в последовательном внутрисуставном введении аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы и, не ранее чем через неделю двухкратном введении препарата гиалуроновой кислоты целесообразно применять для улучшения результатов консервативного лечения пациентов с остеоартрозом коленного сустава III-IV стадии.
4. Для снижения риска развития возможных осложнений, проявляющихся в усилении болевого синдрома, развития синовита, аутологичную обогащенную тромбоцитами плазму необходимо вводить в сустав не чаще 1 раза в 3 недели в объеме, не превышающим 2 мл.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Дальнейшие экспериментальные исследования морфологической картины структур коленного сустава на фоне экспериментального остеоартроза, динамики активности металлопротеиназ, тканевых ингибиторов металлопротеиназ в разные периоды времени после применения аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы, препарата гиалуроновой кислоты, их комбинаций, позволили ли бы значительно расширить сведения влиянии методик на течение заболевания и создать новые высокоэффективные способы лечения пациентов с остеоартрозом коленного сустава.

Клинические исследования, направленные на изучение последовательного применения аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы и препарата гиалуроновой кислоты у пациентов с остеоартрозом коленного сустава III-IV стадии, позволят разработать более эффективный и безопасный способ уменьшения болевого синдрома, некоторого улучшения функции сустава и качества жизни на период подготовки пациентов к хирургическому лечению.

Несомненный интерес с точки зрения восстановления синовиальной среды сустава, улучшения репаративных процессов в тканях и сокращения периода реабилитации представляет изучение возможностей применения аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы у пациентов, перенесших несложные артроскопические и реконструктивно-пластические операции на коленном суставе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авдеева, А. С. Клиническое значение матричных металлопротеиназ при ревматоидном артрите (обзор литературы и собственные данные) / А. С. Авдеева, Е. Н. Александрова, Е. Л. Насонов // Научно-практическая ревматология. – 2014. – № 1. – С. 79–84.
2. Аксененко, М. Б. Оценка взаимосвязи ингибирования матричной металлопротеиназы-9 и содержания коллагеновых волокон в различных органах [Текст] / М. Б. Аксененко, Т. Г. Рукша // Сибирский медицинский журнал. – 2013. – №. 2. – С. 56–58.
3. Алексеева, Л. И. Новые направления терапии остеоартроза [Текст] / Л. И. Алексеева // Фарматека. – 2003. – № 5. – С. 20–24.
4. Анализ эпидемиологических показателей заболеваний костно-мышечной системы и остеоартроза в Архангельской области и Краснодарском крае (краткий обзор литературы) [Электронный ресурс] / М. В. Макарова, Л. В. Титова, А. Р. Арутюнов [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. Электронный журнал. – 2015. – Т. 9, № 1. – DOI: 10.12737/8115. – Режим доступа: <http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2015-1/5024.pdf>
5. Балабанова, Р. М. Остеоартроз или остеоартрит? Современное представление о болезни и ее лечении [Текст] / Р. М. Балабанова // Современная ревматология. – 2013. – № 3. – С. 67–70.
6. Васькова, Н. В. Отечественный препарат гиалуроновой кислоты Русвиск: оценка ранней эффективности и безопасности локальной терапии гонартроза [Текст] / Н. В. Васькова, О. М. Лесняк // Научно-практическая ревматология. – 2014. – № 52(5). – С. 538–544.
7. Голубев, Г. Молекулярная патология остеоартроза как основа для создания патогенетически обоснованной структурно-модифицирующей терапии

[Текст] / Г. Голубев, О. Кригштейн // Междунар. журн. мед. практики. – 2005. – № 2. – С. 30–37.

8. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Волгоградской области в 2013 году» [Электронный ресурс] / Сайт Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Волгоградской области – Режим доступа: <http://34.rospotrebnadzor.ru/content/282/6037>

9. Государственный доклад о реализации государственной политики в сфере охраны здоровья за 2015 год [Электронный ресурс] / Сайт Минздрава РФ. – Режим доступа: <https://www.rosminzdrav.ru/ministry/programms/gosudarstvennyy-doklad-o-realizatsii-gosudarstvennoy-politiki-v-sfere-ohrany-zdorovya-za-2014-god>

10. Доклад о состоянии здоровья населения и организации здравоохранения по итогам деятельности органов исполнительной власти субъектов Российской Федерации за 2013 год [Электронный ресурс] / Сайт Минздрава РФ. – Режим доступа: https://www.rosminzdrav.ru/ministry/61/22/stranitsa-979/doklad_2013

11. Доклад о состоянии здоровья населения и организации здравоохранения по итогам деятельности органов исполнительной власти субъектов Российской Федерации за 2014 год [Электронный ресурс] / Сайт Минздрава РФ. – Режим доступа: <https://www.rosminzdrav.ru/ministry/programms/doklad-o-sostoyanii-zdorovya-naseleniya-i-organizatsii-zdravoohraneniya-po-itogam-deyatelnosti-organov-ispolnitelnoy-vlasti-sub-ektov-rossiyskoy-federatsii-za-2014-god>

12. Заболеваемость взрослого населения России в 2011 г. / [Электронный ресурс] / Сайт Минздрава РФ. – Режим доступа: www.rosminzdrav.ru

13. Зборовский, А. Б. Остеоартроз [Текст] : учебное пособие / А. Б. Зборовский. – Волгоград : Издательство ВолгГМУ, 2010. – 48 с.

14. Зоткин Е. Г. Особенности ведения пациентов с остеоартрозом в первичном звене здравоохранения [Электронный ресурс] / Е. Г. Зоткин, С. Ю. Шкиреева // РМЖ. – 2012. – № 34. – С. 1665. – Режим доступа:

http://www.rmj.ru/articles/revmatologiya/Osobennosti_vedeniya_pacientov_s_osteoartr ozom_v_pervichnom_zvene_zdravooohraneniya/#ixzz4i1IiPlDk

15. Иммуногистохимические методы : руководство [Текст] / под ред. George L. Kumar, Lars Rudbeck. : ДАКО ; пер. с англ. под ред. Г. А. Франка и П. Г. Малькова. – М., 2011. – 224 с.

16. Клиническая эффективность препаратов гиалуроновой кислоты в лечении деформирующего артроза [Текст] / А. И. Найманн, С. В. Донченко, Л. А. Якимов [и др.] // Кафедра травматологии и ортопедии. – 2012. – № 2. – С. 29–35.

17. Клиническое значение матриксных металлопротеиназ при сердечно-сосудистой патологии [Текст] / В. А. Ахмедов, В. Т. Долгих, Д. В. Наумов [и др.] // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2013. – № 2. – С. 77–79.

18. Клишо, Е. В. Матриксные металлопротеиназы в онкогенезе [Текст] / Е. В. Клишо, И. В. Кондакова, Е. Л. Чойнзонов // Сибирский онкологический журнал. – 2003. – № 2. – С. 63–70.

19. Комплексная оценка эффективности терапии у больных с гонартрозом [Текст] / С. Р. Самусев, Д. А. Маланин, В. В. Новочадов [и др.] // Бюллетень Волгоградского научного центра РАМН и Администрации Волгоградской области. – 2008. – № 4. – С. 51–55.

20. Коржевский, Д. Э. Иммуногистохимическое выявление нейронов головного мозга с помощью селективного маркера NeuN [Текст] / Д. Э. Коржевский, Е. Г. Гилерович, Н. Н. Зинькова // Морфология. – 2005. – Т. 128, № 5. – С. 76–78.

21. Корнилов, Н. В. Травматология и ортопедия. Руководство для врачей в 4 т. [Текст] / Н. В. Корнилов, Э. Г. Грязнухина. – СПб. : Гиппократ, 2006. – С. 213–438.

22. Косинская, Н. С. Рабочая классификация и общая характеристика поражений костно-суставного аппарата [Текст] / Н. С. Косинская, Д. Г. Рохлин. – Л. : Медицина, 1961. – 169 с.

23. Котельников, Г. П. Доказательная медицина. Научно обоснованная медицинская практика : монография [Текст] / Г. П. Котельников, А. С. Шпигель. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 242 с.

24. Котельников, Г. П. Сравнительная оценка структурных изменений тканей сустава при различных моделях экспериментального артроза [Текст] / Г. П. Котельников, Ю. В. Ларцев, А. Н. Махова // Казанский медицинский журнал. – 2006. – № 1. – С. 31–35.

25. Лучихина, Л. В. Артроз, ранняя диагностика и патогенетическая терапия [Текст] / Л. В. Лучихина. – М. : НПО «Медицинская энциклопедия» РАМН, ЗАО «ШИКО», 2001. – 168 с.

26. Мазуров, В. И. Остеоартроз: этиопатогенез, клиника, диагностика, лечение [Текст] / В. И. Мазуров, И. А. Онущенко. – СПб, 2000. – С. 122.

27. Матриксные металлопротеиназы [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://laboratory.rusmedserv.com/files/43_MMP.pdf (дата обращения: 26.12.2011).

28. Матриксные металлопротеиназы 2, 7, 9 и тканевой ингибитор металлопротеиназ 1-го типа в опухолях и сыворотке крови больных новообразованиями яичников [Текст] / Е. С. Герштейн, Н. В. Левкина, М. А. Дигаева [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2010. – Т. 149, № 5. – С. 562–565.

29. Матриксные металлопротеиназы, их роль в физиологических и патологических процессах (обзор) [Текст] / Л. Н. Рогова, Н. В. Шестернина, Т. В. Замечник [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. – 2011. – Т. XVIII, № 2. – С. 86–89.

30. Медицинские и социальные проблемы эндопротезирования суставов конечностей [Текст] / В. П. Москалев, Н. В. Корнилов, К. И. Шапиро [и др.]. – СПб. : МОРСАР АВ, 2001. – 160 с.

31. Морфогенез гиалинового хряща коленного сустава на фоне внутрисуставного введения обогащенной тромбоцитами аутологичной плазмы и/или препарата гиалуроновой кислоты у крыс с экспериментальным

остеоартрозом [Текст] / С. А. Демкин, Д. А. Маланин, Л. Н. Рогова [и др.] / Травматология и ортопедия России. – 2016. – № 22(4). – С. 76–87. – Режим доступа: <https://doi: 10.21823/2311-2905-2016-22-4-76-87>.

32. Насонова, Е. Л. Ревматология: национальное руководство [Текст] / Е. Л. Насонова, В. А. Насонова. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2008. – С. 573–588.

33. Насонова, В. А. Международное десятилетие болезней костей и суставов (The bone and joint Decade 2000–2010) – многодисциплинарная акция [Текст] / В. А. Насонова, Н. Г. Халтаев // Тер. архив. – 2001. – № 5. – С. 5–8.

34. Насонова, В. А. Ревматические заболевания в Российской Федерации в начале XXI века глазами статистики [Текст] / В. А. Насонова, О. М. Фоломеева, Ш. Ф. Эрдес // Тер. арх. – 2009. – № 6. – С. 5–10.

35. Новиков, Д. А. Статистические методы в медико-биологическом эксперименте [Текст] / Д. А. Новиков, В. В. Новочадов. – Волгоград : Изд-во ВолГМУ, 2005. – 84 с.

36. Обзор книги Dabbs D. J. «Diagnostic immunohistochemistry» [Электронный ресурс]. – 2010. – Режим доступа: <http://www.umj.com.ua/article/3152>

37. Обогащенная тромбоцитами аутологичная плазма в лечении пациентов с остеоартрозом коленного сустава II стадии [Электронный ресурс] / Д. А. Маланин, С. А. Демкин, М. В. Демещенко [и др.] // Гений ортопедии. – 2017. – Т. 23, № 1. – С. 44–51. – Режим доступа: <https://doi: 10.18019/1028-4427-2017-23-1-44-51>.

38. Обогащенная тромбоцитами аутологичная плазма в лечении пациентов с гонартрозом III стадии [Текст] / Д. А. Маланин, В. В. Новочадов, С. А. Демкин [и др.] // Травматология и ортопедия России. – 2014. – № 3(73). – С. 52–59.

39. Огарков, О. Б. Медицинская демография и причины смертности населения Иркутска [Текст] / О. Б. Огарков, Л. П. Гришина. – 3-е изд., перераб. и доп. – Иркутск, 2010. – 42 с.

40. Ортопедическое лечение дегенеративно-дистрофических поражений крупных суставов у взрослых [Текст] / О. В. Оганесян, В. В. Троценко, О. А. Ушакова [и др.]. – М. : ЦИТО, 1996. – 23 с.

41. Особенности окислительного стресса в крови и синовиальной жидкости при гонартрозе [Текст] / В. В. Внуков, С. Б. Панина, И. В. Кролевец [и др.] // Успехи геронтологии. – 2015. – Т. 28, № 2. – С. 284–289.

42. Основные задачи международной декады (The Bone and Joint Decade 2000–2001) в совершенствовании борьбы с наиболее распространенными заболеваниями опорно-двигательного аппарата в России [Текст] / А. И. Вялков, Е. И. Гусев, А. Б. Зборовский [и др.] // Научно-практическая ревматология. – 2001. – № 2. – С. 4–8.

43. Отставнов, С. С. Анализ состояния здоровья населения как фактор, определяющий приоритетные сегменты рынка медицинских изделий [Электронный ресурс] / С. С. Отставнов, А. В. Бреусов // Наука и образование МГТУ им. Баумана. – 2013. – Режим доступа: technomag.bmstu.ru

44. Патент № 2572447 Российская Федерация. Способ лечения остеоартроза коленного сустава [Текст] / Маланин Д. А., Рогова Л. Н., Дёмкин С. А., Демещенко М. В. ; патентообладатель ГБОУ ВПО ВолгГМУ МЗ РФ. – № 2014120777/14; заявл 22.05.2014; опубл. 10.01.2016 Бюл. № 1.

45. Петров, С. В. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей [Текст] / С. В. Петров, Н. Т. Райхлин. – Казань, 2004.

46. Петрунько, И. Л. Заболеваемость с временной нетрудоспособностью при болезнях костно-мышечной системы в Иркутской области [Текст] / И.Л. Петрунько // Сиб. мед. журнал. – 2011. – № 6. – С. 153–156.

47. Показатели системы матриксных металлопротеиназ (ММП-2, ММП-9, ТИМР-1) при ювенильных артритах у детей [Текст] / А. Н. Кайлина, Л. М. Огородова, Ю. П. Часовских // Вестник РАМН. – 2013. – № 7. – С. 36–40.

48. Потеряева, О. Н. Анализ активности матриксные металлопротеиназ и $\alpha 1$ -протеазного ингибитора в сыворотке крови больных сахарным диабетом 2-го типа [Текст] / О. Н. Потеряева, Г. С. Русских, Л. Е. Панин // Бюл. 145 Экспериментальной биологии и медицины – 2011. – Т. 152, № 11. – С. 509–510.

49. Потеряева, О. Н. Матриксные металлопротеиназы: строение, регуляция, роль в развитии патологических состояний (обзор литературы) [Текст] / О. Н. Потеряева // Медицина и образование в Сибири. – 2010. – № 5. – С. 7–17.

50. Потребность в комплексной реабилитации инвалидов с ревматоидным артритом [Текст] / И. Л. Петрунько, М. В. Никитич, О. В. Давыдова [и др.] // Паллиат. медицина и реабилитация. – 2010. – № 3. – С. 29–32.

51. Рометар [Электронный ресурс] : инструкция по применению препарата. – Режим доступа: <http://st.vetprodukt.ru/11/1784/667/Rometar.pdf>

52. Руководство по остеопорозу [Текст] / под ред. д. м. н., проф. Л. И. Беневоленской. – 2003. – 524 с.

53. Самодай, В. Г. Возможности использования богатой тромбоцитами аутоплазмы для лечения деформирующего остеоартроза [Текст] / В. Г. Самодай, С. В. Рябинин, М. Г. Полесский, Д. А. Атякшин // Прикладные информационные аспекты медицины. – 2015. – Т. 18, № 3. – С. 63–67.

54. Самодай, В. Г. Использование аутогенных факторов роста в лечении деформирующего остеоартроза крупных суставов / В. Г. Самодай, С. В. Рябинин, М. Г. Полесский // Классика и инновации в травматологии и ортопедии : сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 75-летию профессора А. П. Барабаша. – 2016. – С. 306–309.

55. Свободнорадикальное окисление в синовиальной жидкости и апоптоз хондроцитов при гонартрозе [Текст] / В. В. Внуков, И. В. Кролевец, Н. П. Милютина [и др.] // Валеология. – 2012. – № 4. – С. 38–44.

56. Светлова, М. С. Остеоартроз коленных суставов: диагностика и структурно-модифицирующая терапия Терафлексом® [Текст] / М. С. Светлова // РМЖ. – 2011. – № 31. – С. 1959.

57. Система учёта пациентов, нуждающихся в эндопротезировании тазобедренного и коленного суставов [Текст] / А. Ж. Чёрный, В. И. Кувакин, Т. Н. Воронцова [и др.] // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2015. – № 4(52). – С. 176–182.

58. Соловьева, Н. И. Матриксные металлопротеиназы и их биологические функции [Текст] / Н. И. Соловьева // Биоорганическая химия. – 1998. – Т. 24, № 4. – С. 245–255.

59. Соловьева, Н. И. Методы определения активности матриксных металлопротеиназ [Текст] / Н. И. Соловьева // Клиническая лабораторная диагностика. – 2010. – № 2. – С. 17–21.

60. Турна, А. А. Активность матриксных металлопротеиназ при различных патогенетических вариантах воспаления [Текст] : автореф. дис... докт. мед. наук : 03.01.04, 14.03.10 / Турна А. А. – М., 2009. – 20 с.

61. Турна, А. А. Роль матриксных металлопротеиназ в деструкции соединительной ткани при воспалении различного генеза [Текст] / А. А. Турна // Лаборатория. – 2010. – № 2. – С. 28.

62. Фоломеева, О. М. Распространенность и социальная значимость ревматических заболеваний в Российской Федерации [Текст] / О. М. Фоломеева, Ш. Ф. Эрдес // Доктор (ревматология). – 2007. – № 10. – С. 3–12.

63. Хрящ [Текст] / В. Н. Павлова, Т. Н. Копьева, Л. И. Слущкий [и др.]. – М. : Медицина, 1988. – 317 с.

64. Широкова, Л. Ю. Применение аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы при гонартрозе [Текст] / Л. Ю. Широкова, С. М. Носков, Ю. В. Голикова // Клиническая геронтология. – 2012. – № 18. – С. 9–13.

65. Щербакова, Е. М. Заболеваемость населения России, 2014–2015 годы [Электронный ресурс] / Е. М. Щербакова // Демоскоп Weekly. – 2016. – № 683–684. – Режим доступа: <http://demoscope.ru/weekly/2016/0683/barometer683.pdf>

66. Ярмолинская, М. И. Матриксные металлопротеиназы и ингибиторы: классификация, механизм действия [Текст] / М. И. Ярмолинская, А. С. Молотков, В. М. Денисова // Журнал акушерства и женских болезней. – 2012. – Т. LXI. – С. 113–125.

67. A Fatal Sepsis Caused by Hyaluronate Knee Injection: How Much the Medical History and the Informed Consent Might Be Important? [Electronic resource] / F. Manfreda, G. Rinonapoli, A. Nardi [et al.] // Case Rep Orthop. – 2017. – Vol. 2017. –

P. 1518401. – URL: <https://doi: 10.1155/2017/1518401>. – Epub 2017 Feb 23. – PubMed PMID: 28326213; PubMed Central PMCID: PMC5343234.

68. A new technique for hemodilution, preparation of autologous platelet-rich plasma and intraoperative blood salvage in cardiac surgery [Text] / M. Ferrari, S. Zia, M. Valbonesi [et al.] // *Int J Artif Org.* – 1987. – No. 10. – P. 47–50.

69. Abundant retention and release of connective tissue growth factor (CTGF/CCN2) by platelets [Text] / S. Kubota, K. Kawata, T. Yanagita [et al.] // *J Biochem.* – 2004. – No. 136. – P. 279–282.

70. Advantages of Pure Platelet-Rich Plasma Compared with Leukocyte- and Platelet-Rich Plasma in Treating Rabbit Knee Osteoarthritis [Text] / W. J. Yin, H. T. Xu, J. G. Sheng [et al.] // *Med Sci Monit.* – 2016 Apr 17. – No. 22. – P. 1280–1290. – PubMed PMID: 27086145; PubMed Central PMCID: PMC4837928.

71. Aigner, T. Independent expression of fibril-forming collagens I, II, and III in chondrocytes in human osteoarthritic cartilage [Text] / T. Aigner, W. Bertling, H. Stob // *J Clin Invest.* – 1993. – No. 91. – P. 829–837.

72. Altman. R. D. Classification of disease: osteoarthritis [Text] / R. D. Altman // *Semin. Arthr. Rheum.* – 1991. – Vol. 20. – P. 40–47.

73. Andia, I. Joint pathology and platelet-rich plasma therapies [Text] / I. Andia, M. Sanchez, N. Maffulli // *Expert Opin. Biol. Ther.* – 2012. – No. 12(1). – P. 7–22.

74. Anitua, E. Allogeneic Platelet-Rich Plasma: At the Dawn of an Off-the-Shelf Therapy? [Electronic resource] / E. Anitua, R. Prado, G. Orive // *Trends Biotechnol.* – 2017 Feb. – No. 35(2). – P. 91–93. – URL: <https://doi: 10.1016/j.tibtech.2016.11.001>. – Epub 2016 Nov 28. – PubMed PMID: 27908451

75. Apoptotic cell death is not a widespread phenomenon in normal aging and osteoarthritis human articular knee cartilage: A study of proliferation, programmed cell death (apoptosis), and viability of chondrocytes in normal and osteoarthritic human knee cartilage [Text] / T. Aigner, M. Hemmel, D. Neureiter [et al.] // *Arthritis Rheumatol.* – 2001. – No. 44. – P. 1304–1312.

76. Arthritis Research & Therapy [Electronic resource] / Quero [et al.]. – 2013. – No. 15. – P. R94. – URL: <http://arthritis-research.com/content/15/4/R94>

77. Atlas of individual radiographic features in osteoarthritis [Text] / R. D. Altman, M. C. Hochberg, W. A. Murphy [et al.] // Osteoarthritis Cart. – 1995. – No. 3. – P. 3–70.

78. Autologous conditioned serum (ortokine) is an effective treatment for knee osteoarthritis [Text] / A. W. Baltzer, C. Moser, S. A. Jansen [et al.] // Osteoarthritis Cartilage. – 2009. – No. 17. – P. 152–160.

79. Autologous platelet concentrates as a treatment of horses with osteoarthritis: a preliminary pilot clinical study [Text] / J. U. Carmona, D. Arguelles, F. Climent [et al.] // J Equin Vet Sci. – 2007. – No. 27. – P. 167–170.

80. Autologous protein solution inhibits MMP-13 production by IL-1beta and TNFalpha-stimulated human articular chondrocytes [Text] / J. Woodell May, A. Matuska, M. Oyster [et al.] // J Orthop Res. – 2011. – No. 29. – P. 1320–1326.

81. Balazs, E. A. Nomenclature of hyaluronic acid [Text] / E. A. Balazs, T. C. Laurent, R. W. Jeanloz // J. Biochem. – 1986. – Vol. 235. – P. 903.

82. Balazs, E. A. Viscosupplementation for treatment of osteoarthritis: from initial discovery to current status and results [Text] / E. A. Balazs // Surg. Technol. Int. – 2004. – Vol. 12. – P. 278–289.

83. Basic science and clinical application of platelet-rich plasma for cartilage defects and osteoarthritis: a review [Text] / Y. Zhu, M. Yuan, H. Y. Meng [et al.] // Osteoarthritis and Cartilage. – 2013. – Vol. 21, No. 11. – P. 1627–1637.

84. Bellayr, I. H. Biochemical insights into the role of matrix metalloproteinases in regeneration: challenges and recent developments [Text] / I. H. Bellayr, X. Mu, Y. Li // NIH Public Access Author Manuscript. – 2010.

85. Belmonte, C. Modulation by hyaluronan and its derivatives (hyalans) of sensory nerve activity signalling articular pain [Text] / C. Belmonte, M. A. Pozo, E. A. Balazs // The Chemistry, Biology and Medical Applications of Hyaluronan and its Derivatives (Proceedings of the Wenner-Gren Foundation International Symposium) / T. C. Laurent (ed). – London : Portland Press, 1998. – P. 205–217.

86. Berghoff, W. J. Platelet-rich plasma application during closure following total knee arthroplasty [Text] / W. J. Berghoff, W. S. Pietrzak, R. D. Rhodes // Orthopedics. – 2006. – No. 29. – P. 590–598.
87. Buckwalter, J. A. Articular cartilage injuries [Text] / J. A. Buckwalter // Clin. Orthop. – 2002. – Vol. 402. – P. 21–37.
88. Buckwalter, J. A. Articular cartilage. Part II. Degeneration and osteoarthritis, repair, regeneration and transplantation [Text] / J. A. Buckwalter, H. J. Maxin // J. Bone Joint Surg. – 1997. – No. 4. – P. 612–632.
89. Burrage, P. S. Matrix metalloproteinases: role in arthritis [Text] / P. S. Burrage, K. S. Mix, C. E. Brinckerhoff // Front. Biosci. – 2006. – Vol. 11. – P. 529–543.
90. Carmeliet, P. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis. [Text] / P. Carmeliet, R. K. Jain // Nature. – 2011. – No. 473. – P. 298–307.
91. Cellular effects of platelet rich plasma: a study on HL-60 macrophage-like cells [Text] / J. Woodall, M. Tucci, A. Mishra [et al.] // Biomed Sci Instrum. – 2007. – No. 43. – P. 266–271.
92. Cerza, F. Comparison between hyaluronic acid and platelet-rich plasma, intra-articular infiltration in the treatment of gonarthrosis [Text] / F. Cerza, S. Carni, A. Carcangiu // Am J Sports Med. – 2012. – No. 40. – P. 2822–2827.
93. Chondroinduction is the main cartilage repair response to microfracture and microfracture with BST-CarGel: Results as shown by ICRS-II histological scoring and a novel zonal collagen type scoring method of human clinical biopsy specimens [Text] / C. D. Hoemann, N. Tran-Khanh, A. Chevrier [et al.] // Am. J. Sports Med. – 2015.
94. Chondroprotective effects of high-molecular-weight cross-linked hyaluronic acid in a rabbit knee osteoarthritis model [Electronic resource] / S. Elmorsy, T. Funakoshi, F. Sasazawa [et al.] // Osteoarthritis Cartilage. – 2014 Jan. – No. 22(1). – P. 121–127. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.joca.2013.10.005>. – PubMed PMID: 24185110.
95. Clinical effectiveness in severe knee osteoarthritis after intra-articular platelet-rich plasma therapy in association with hyaluronic acid injection: three case reports [Electronic resource] / S. H. Chen, T. S. Kuan, M. J. Kao [et al.] // Clin Interv

Aging. – 2016 Sep 8. – No. 11. – P. 1213–1219. – eCollection 2016 Sep 8. – PubMed PMID: 27660427; PubMed Central PMCID: PMC5019165

96. Combination of Intra-Articular and Intraosseous Injections of Platelet Rich Plasma for Severe Knee Osteoarthritis: A Pilot Study [Electronic resource] / M. Sánchez, D. Delgado, P. Sánchez [et al.] // Biomed Res Int. – 2016. – Vol. 2016. – P. 4868613. – URL: [https://doi: 10.1155/2016/4868613](https://doi.org/10.1155/2016/4868613). – Epub 2016 Jul 4. – PubMed PMID: 27462609; PubMed Central PMCID: PMC4947638.

97. Comparative effectiveness of platelet-rich plasma injections for treating knee joint cartilage degenerative pathology: a systematic review and meta-analysis [Electronic resource] / K.V. Chang, C. Y. Hung, F. Aliwarga [et al.] // Arch Phys Med Rehabil. – 2014 Mar. – No. 95(3). – P. 562–575. – URL: [https://doi: 10.1016/j.apmr.2013.11.006](https://doi.org/10.1016/j.apmr.2013.11.006). Review. – PubMed PMID: 24291594.

98. Comparison of Single Intra-Articular Injection of Novel Hyaluronan (HYA-JOINT Plus) with Synvisc-One for Knee Osteoarthritis: A Randomized, Controlled, Double-Blind Trial of Efficacy and Safety [Electronic resource] / S. F. Sun, C. W. Hsu, H. S. Lin [et al.] // J Bone Joint Surg Am. – 2017 Mar 15. – No. 99(6). – P. 462–471. – URL: [https://doi: 10.2106/JBJS.16.00469](https://doi.org/10.2106/JBJS.16.00469). – PubMed PMID: 28291178

99. Comparison of the chondroprotective effect of a novel hydrogel compound and traditional hyaluronate on rat cartilage in a papain-induced osteoarthritis model [Electronic resource] / E. Şükür, C. Talu, Y. E. Akman [et al.] // Acta Orthop Traumatol Turc. – 2016 Aug. – No. 50(4). – P. 458–463. – URL: [https://doi: 10.1016/j.aott.2016.07.008](https://doi.org/10.1016/j.aott.2016.07.008). – PubMed PMID: 27449593

100. Comparison of the Effects of Matrix Metalloproteinase Inhibitors on TNF- α Release from Activated Microglia and TNF- α Converting Enzyme Activity [Text] / Lee Eun-Jung, Moon Pyong-Gon, Baek Moon-Chang [et al.] // Biomolecules Therapeutics. – 2014. – No. 5. – P. 414–419.

101. Core binding factor β plays a critical role during chondrocyte differentiation. [Text] / N. R. Park, K. E. Lim, M. S. Han [et al.] // J. Cell. Physiol. – 2016. – No. 231. – P. 162–171.

102. Crane, D. Platelet Rich Plasma (PRP) Matrix Grafts [Text] / D. Crane // Practical pain management. – 2008. – No. 8. – P. 12–26.

103. Di Cesare, P. E. Pathogenesis of osteoarthritis / P. E. Di Cesare, S. B. Abramson // Kelley's Textbook of Rheumatology / Jr. E. Harris (Eds.). – Philadelphia : Elsevier Saunders; 2005. – P. 1493–1513.

104. Differences in multijoint radiographic osteoarthritis phenotypes among African Americans and Caucasians: the Johnston County Osteoarthritis project [Electronic resource] / A. E. Nelson, J. B. Renner, T. A. Schwartz [et al.] // Arthritis Rheum. – 2011 Dec. – No. 63(12). – P. 3843–3852. – URL: <https://doi:10.1002/art.30610>.

105. Differential Regulation of Matrix Metalloproteinase 2 and Matrix Metalloproteinase 9 by Activated Protein C Relevance to Inflammation in Rheumatoid Arthritis [Text] / M. Xue, L. March, P. N. Sambrook [et al.] // Arthritis Rheumatism. – 2007. – Vol. 56, No. 9. – P. 2864–2874.

106. Does platelet-rich plasma enhance microfracture treatment for chronic focal chondral defects? An in vivo study performed in a rat model [Text] / O. Hapa, H. Cakici, H. Y. Yuksel [et al.] // Acta Orthop Traumatol Turc. – 2013. – No. 47(3). – P. 201–207.

107. Effect of autologous platelet-rich plasma on the repair of full-thickness articular defects in rabbits [Text] / C. I. Serra, C. Soler, J. M. Carillo [et al.] // Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc. – 2013. – No. 21(8). – P. 1730–1736.

108. Effect of hyaluronic acids as chondroprotective in experimental model of osteoarthritis [Electronic resource] / M. Z. Oliveira, M. B. Albano, M. M. Namba [et al.] // Rev Bras Ortop. – 2014 Feb 12. – No. 49(1). – P. 62–68. – URL: <https://doi:10.1016/j.rboe.2014.01.007>. – PubMed PMID: 26229774; PubMed Central PMCID: PMC4511756.

109. Effect of Leukocyte Concentration on the Efficacy of Platelet-Rich Plasma in the Treatment of Knee Osteoarthritis [Electronic resource] / J. C. Riboh, B. M. Saltzman, A. B. Yanke [et al.] // Am J Sports Med. – 2016 Mar. – No. 44(3). – P. 792–800. – URL: <https://doi:10.1177/0363546515580787>. – Epub 2015 Apr 29. – PubMed PMID: 25925602.

110. Effect of platelet concentration in platelet-rich plasma on peri-implant bone regeneration [Text] / G. Weibrich, T. Hansen, W. Kleis [et al.] // *Bone*. – 2004. – No. 34. – P. 665–671.

111. Effect of single injection of platelet-rich plasma in comparison with corticosteroid on knee osteoarthritis: a double-blind randomized clinical trial [Electronic resource] / B. Forogh, E. Mianehsaz, S. Shoaee [et al.] // *J Sports Med Phys Fitness*. – 2016 Jul-Aug. – No. 56(7–8). – P. 901–908. – Epub 2015 Jul 14. – PubMed PMID: 26173792.

112. Efficacy and safety of cross-linked hyaluronic acid single injection on osteoarthritis of the knee: a post-marketing Phase IV study [Electronic resource] / K. Bashaieh, Z. Naser, K. A. Hawadya [et al.] // *Drug Des Devel Ther*. – 2015 Apr 8. – No. 9. – P. 2063–2072. – URL: [https://doi: 10.2147/DDDT.S81524](https://doi.org/10.2147/DDDT.S81524). – PubMed PMID: 25897212; PubMed Central PMCID: PMC4396588.

113. Efficacy of Intra-articular Platelet-Rich Plasma Injections in Knee Osteoarthritis: A Systematic Review [Electronic resource] / C. J. Meheux, P. C. McCulloch, D. M. Lintner [et al.] // *Arthroscopy*. – 2016 Mar. – No. 32(3). – P. 495–505. – URL: [https://doi: 10.1016/j.arthro.2015.08.005](https://doi.org/10.1016/j.arthro.2015.08.005). – Epub 2015 Oct 1. Review. – PubMed PMID: 26432430.

114. Efficacy of Platelet-Rich Plasma in the Treatment of Knee Osteoarthritis: A Meta-analysis of Randomized Controlled Trials [Electronic resource] / W. L. Dai, A. G. Zhou, H. Zhang [et al.] // *Arthroscop*. – 2017 Mar. – No. 33(3). – P. 659–670.e1. – URL: [https://doi: 10.1016/j.arthro.2016.09.024](https://doi.org/10.1016/j.arthro.2016.09.024). – Epub 2016 Dec 22. – PubMed PMID: 28012636.

115. Efficacy of platelet-rich plasma injections in osteoarthritis of the knee: a systematic review and meta-analysis [Electronic resource] / A. B. Laudy, E. W. Bakker, M. Rekers [et al.] // *Br J Sports Med*. – 2015 May. – No. 49(10). – P. 657–672. – URL: [https://doi: 10.1136/bjsports-2014-094036V](https://doi.org/10.1136/bjsports-2014-094036V). – Epub 2014 Nov 21. Review. – PubMed PMID: 25416198.

116. Efficacy of Platelet-Rich Plasma versus Hyaluronic Acid for treatment of Knee Osteoarthritis: A systematic review and meta-analysis [Electronic resource] /

H. N. Sadabad, M. Behzadifar, F. Arasteh [et al.] // *Electron Physician*. – 2016 Mar 25. – No. 8(3). – P. 2115–2122. – URL: [https://doi: 10.19082/2115](https://doi.org/10.19082/2115). – eCollection 2016 Mar 25. – PubMed PMID: 27123220; PubMed Central PMCID: PMC4844477.

117. Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States. Part II [Text] / R. C. Lawrence, D.T. Felson, C. G. Heimick [et al.] // *Arth.Rheum*. – 2008. – V. 58. – P. 26–35.

118. Evidence for increased bone resorption in patients with progressive knee osteoarthritis: longitudinal results from the Chingford study [Text] / P. Bettica, G. Cline, D. J. Hart [et al.] // *Arthritis Rheum*. – 2002. – Vol. 46. – P. 3178–3184.

119. Experimental osteoarthritis model by means of medial meniscectomy in rats and effects of diacerein administration and hyaluronic acid injection [Electronic resource] / M. U. Rezende, A. J. Hernandez, C. R. Oliveira [et al.] // *Sao Paulo Med J*. – 2015 Feb. – No. 133(1). – P. 4–12. – URL: [https://doi: 10.1590/1516-3180.2013.6730001](https://doi.org/10.1590/1516-3180.2013.6730001). – PubMed PMID: 25424775.

120. Expression of angiogenic factors in endometriosis: relationship to fibrinolytic and metalloproteinase systems [Text] / J. GilabertEstelle's, L. A. Ramon, F. Espana [et al.] // *Human Reproduction*. – 2007. – Vol. 22, No. 8. – P. 2120–2127.

121. Expression of neutrophil collagenase (matrix metalloproteinase-8) in human atheroma: A novel collagenolytic pathway suggested by transcriptional profiling [Text] / M. P. Herman, G. K. Sukhova, P. Libby [et al.] // *Circulation*. – 2001. – Vol. 104. – P. 1899–1904.

122. Expression profiling of metalloproteinases and their inhibitors in synovium and cartilage [Text] / R. K. Daidson, J.G. Waters, L. Kevorkian [et al.] // *Arthritis Research Therapy*. – 2006. – Vol. 8. – P. R124.

123. Ferrari, M. A new technique for hemodilution, preparation of autologous platelet-rich plasma and intraoperative blood salvage in cardiac surgery [Text] / M. Ferrari, S. Zia, M. Valbonesi // *Int. J. Artif. Organs*. – 1987. – № 10. – P. 47–50.

124. Fibroblastic response to treatment with different preparations rich in growth factors [Text] / E. Anitua, M. Sanchez, M. M. Zalduendo [et al.] // *Cell Prolif*. – 2009. – No. 42. – P. 162–170.

125. Filardo, G. Platelet-rich plasma intra-articular knee injections for the treatment of degenerative cartilage lesions and osteoarthritis [Text] / G. Filardo, E. Kon // *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* – 2011. – No. 19. – P. 528–535.

126. Foster, T. E. Platelet rich plasma: from basic science to clinical application [Text] / T. E. Foster, B. L. Puskas, B. R. Mandelbaum // *Am J Sports Med.* – 2009. – No. 11. – P. 2259–2272.

127. Functional genomics of osteoarthritis [Text] / T. Aigner, E. Bartnik, A. Zien [et al.] // *Pharmacogenomics.* – 2002. – Vol. 3. – P. 635–650.

128. GEWF solution [Text] / K. J. Newell, B. W. Sawka, B. F. Rudrick [et al.] // *Arch Pathol Lab Med.* – 2001 May. – No. 125(5). – P. 642–645. – PubMed PMID: 11300935.

129. Gobbi, D. L. The effects of repeated intra-articular PRP injections on clinical outcomes of early osteoarthritis of the knee [Text] / D. L. Gobbi, G. Karnatzikos // *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy.* – 2014.

130. Gross J., Lapiere C. M [Text] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1962. – Vol. 48. – P. 1014–1022.

131. Growth factors in the treatment of early osteoarthritis [Text] / R. Civinini, L. Nistri, C. Martini [et al.] // *Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism.* – 2013. – Vol. 10, No. 1. – P. 26–29.

132. Guided differentiation of bone marrow stromal cells on co-cultured cartilage and bone scaffolds [Text] / P. Lee, K. Tran, G. Zhou [et al.] // *Soft Matter.* – 2015. – No. 11. – P. 7648–7655.

133. Guidelines for the publication of articles related to platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma – PRP, or Platelet-Rich Fibrin – PRF): the international classification of the POSEIDO [Text] / D. M. Dohan Ehrenfest, G. Sammartino, J. A. Shibli [et al.] // *POSEIDO.* – 2013. – No. 1(1). – P. 17–27.

134. Guner, S. Analyzing the effects of platelet gel on knee osteoarthritis in the rat model [Electronic resource] / S. Guner, O. Buyukbebeci // *Clin Appl Thromb Hemost.* – 2012. – URL: <https://doi:10.1177/1076029612452117>

135. Harrison, P. Platelet function analysis [Text] / P. Harrison // *Blood Reviews*. – 2005. – Vol. 19, No. 2. – P. 111–123.

136. Hedbom, E. Molecular aspects of pathogenesis in osteoarthritis: the role of inflammation [Text] / E. Hedbom, H. J. Hauselmann // *Cell Mol Life Sci*. – 2002. – No. 59. – P. 45–53.

137. Hepatocyte growth factor modulates interleukin-6 production in bone marrow derived macrophages: implications for inflammatory mediated diseases [Text] / G. M. Coudriet, J. He, M. Trucco [et al.] // *PLoS One*. – 2010. – No. 5. – e15384.

138. Hepatocyte growth factor twenty years on: much more than a growth factor [Text] / T. Nakamura, K. Sakai, T. Nakamura // *J Gastroenterol Hepatol*. – 2011. – 26(Suppl 1). – P. 188–202.

139. Heraud, F. Apoptosis in normal and osteoarthritic human articular cartilage [Text] / F. Heraud, A. Heraud, M. F. Harmand // *Ann. Rheum. Dis*. – 2000. – No. 59. – P. 959–965.

140. High molecular weight hyaluronan inhibits proinflammatory cytokine-induced production of matrix metalloproteinases by synovial cells and articular cartilage [Text] / T. Yasuda, M. Shimizu, S. M. Julovi [et al.] // *Clin Rheumatol Related Res*. – 2004. – No. 16. – P. 246–250.

141. Homologous platelet-rich plasma for the treatment of knee osteoarthritis in selected elderly patients: an open-label, uncontrolled, pilot study [Electronic resource] / C. Bottegoni, L. Dei Giudici, S. Salvemini [et al.] // *Ther Adv Musculoskelet Dis*. – 2016 Apr. – No. 8(2). – P. 35–41. – URL: [https://doi: 10.1177/1759720X16631188](https://doi.org/10.1177/1759720X16631188). Epub 2016 Feb 12. – PubMed PMID: 27047571; PubMed Central PMCID: PMC4794951.

142. Hootman, J. M. Projections of US prevalence of arthritis and associated activity limitations [Text] / J. M. Hootman, Ç. G. Helmick // *Arthr.Rheum*. – 2006. – Vol. 54. – P. 226–229.

143. Hyaluronan in part mediates IL-1 β -induced inflammation in mouse chondrocytes by up-regulating CD44 receptors [Electronic resource] / Giuseppe M.

Campo, Angela Avenoso, Angela D'Ascola [et al.] // *Gene*. – Vol. 494, Is. 1. – 15 February 2012. – P. 24–35. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2011.11.064>

144. Hyaluronic acid counteracts interleukin-1-induced inhibition of collagen biosynthesis in cultured human chondrocytes [Text] / E. Karna, W. Milyk, J. A. Palka [et al.] // *Pharmacol Res*. – 2006. – No. 54(4). – P. 275–281.

145. Hyaluronic acid in the treatment of knee osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis with emphasis on the efficacy of different products [Electronic resource] / S. Colen, M. P. van den Bekerom, M. Mulier [et al.] // *BioDrugs*. – 2012 Aug 1. – Vol. 26(4). – P. 257–68. – URL: <https://doi: 10.2165/11632580-000000000-00000>. Review.

146. Hyaluronic acid injection therapy for osteoarthritis of the knee: concordant efficacy and conflicting serious adverse events in two systematic reviews [Text] / C. E. O'Hanlon, S. J. Newberry, M. Booth [et al.] // *Syst Rev*. – 2016 Nov 4. – No. 5(1). – P. 186. – PubMed PMID: 27814744; PubMed Central PMCID: PMC5097414.

147. Hyaluronic Acid Suppresses the Expression of Metalloproteinases in Osteoarthritic Cartilage Stimulated Simultaneously by Interleukin 1 β and Mechanical Load [Electronic resource] / F. Pohlig, F. Guell, U. Lenze [et al.] // *PLoS One*. – 2016 Mar 2. – Vol. 1(3). – e0150020. – URL: <https://doi: 10.1371/journal.pone.0150020>. – PubMed PMID: 26934732; PubMed Central PMCID: PMC4774918.

148. Hyaluronic acid viscosupplementation and osteoarthritis: current uses and future directions [Text] / E. J. Strauss, J. A. Hart, M. D. Mille [et al.] // *Am. J. Sports Med*. – 2009. – Vol. 37, No. 8. – P. 1636–1644.

149. Hylan G-F 20 maintains cartilage integrity and decreases osteophyte formation in osteoarthritis through both anabolic and anti-catabolic mechanisms [Electronic resource] / P. Li, D. Raitcheva, M. Hawes [et al.] // *Osteoarthritis Cartilage*. – 2012 Nov. – No. 20(11). – P. 1336–1346. – URL: <https://doi: 10.1016/j.joca.2012.07.004>. – PubMed PMID: 22809835.

150. Hyun, S. H. Chondrocyte Apoptosis in the Pathogenesis of Osteoarthritis [Text] / S. H. Hyun, A. K. Hyun // *Int. J. Mol. Sci*. – 2015. – No. 16. – P. 26035–26054.

151. Increase in ALK1/ALK5 ratio as a cause for elevated MMP-13 expression in osteoarthritis in humans and mice [Text] / E. N. Blaney Davidson, D. F. G. Remst, E. L. Vitters [et al.] // J. Immunol. – 2009. – No. 182. – P. 7937–7945.

152. Infiltrative treatment with platelet rich plasma (PRP) in gonarthrosis [Text] / G. Mangone, A. Orioli, A. Pinna [et al.] // Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism. – 2014. – Vol. 11, No. 1. – P. 67–72.

153. Inhibition of endogenous TGF- β during experimental osteoarthritis prevents osteophyte formation and impairs cartilage repair [Text] / A. Ehrstuhl, H. L. Glansbeek, H. M. van Beuningen [et al.] // J Immunol. – 2002. – No. 169. – P. 507–514.

154. Inhibition of interleukin-1 β -stimulated production of matrix metalloproteinases by hyaluronan via CD44 in human articular cartilage [Text] / S. Julovi, T. Yasuda, M. Shimizu [et al.] // Arthritis Rheum. – 2004. – No. 50(2). – P. 516–525.

155. Inhibition of VEGF or TGF- β signaling activates endothelium and increases leukocyte rolling [Text] / T. E. Walshe, V. S. Dole, A. S. R. Maharaj [et al.] // Arterioscler Thromb Vasc Biol. – 2009. – No. 29. – P. 1185–1192.

156. Intraarticular administration of platelet-rich plasma with biodegradable gelatin hydrogel microspheres prevents osteoarthritis progression in the rabbit knee [Text] / M. Saito, K. A. Takahashi, Y. Arai [et al.] // Clin Exp Rheumatol. – 2009. – Vol. 27(2). – P. 201–207.

157. Intraarticular gene transfer of thrombospondin-1 suppresses the disease progression of experimental osteoarthritis [Text] / J. L. Hsieh, P. C. Shen, A. L. Shiau [et al.] // J Orthop Res. – 2010. – No. 28. – P. 1300–1306.

158. Intra-articular hyaluronate, tenoxicam and vitamin E in a rat model of osteoarthritis: evaluation and comparison of chondroprotective efficacy [Electronic resource] / F. U. Ozkan, G. Uzer, I. Türkmen [et al.] // Int J Clin Exp Med. – 2015 Jan 15. – No. 8(1). – P. 1018–1026. – PubMed PMID: 25785088; PubMed Central PMCID: PMC4358543.

159. Intra-Articular Injection of Cross-Linked Hyaluronic Acid-Dexamethasone Hydrogel Attenuates Osteoarthritis: An Experimental Study in a Rat Model of

Osteoarthritis [Text] / Z. Zhang, X. Wei, J. Gao [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2016. – No. 17. – P. 411.

160. Intra-articular injection of photo-activated platelet-rich plasma in patients with knee osteoarthritis: a double-blind, randomized controlled pilot study [Electronic resource] / K. L. Paterson, M. Nicholls, K. L. Bennell [et al.] // *BMC Musculoskelet Disord.* – 2016 Feb 9. – No. 17. – P. 67. – URL: [https://doi: 10.1186/s12891-016-0920-3](https://doi.org/10.1186/s12891-016-0920-3). – PubMed PMID: 26861957; PubMed Central PMCID: PMC4748460.

161. Intra-Articular Injections of Platelet-Rich Plasma versus Hyaluronic Acid in the Treatment of Osteoarthritic Knee Pain: A Randomized Clinical Trial in the Context of the Spanish National Health Care System [Electronic resource] / E. Montañez-Heredia, S. Irizar, P. J. Huertas [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2016 Jul 2. – No. 17(7). – PII: E1064. – URL: [https://DOI: 10.3390/ijms17071064](https://doi.org/10.3390/ijms17071064). – PubMed PMID: 27384560; PubMed Central PMCID: PMC4964440.

162. Investigation of two techniques for optimising joint surface congruency following articular resurfacing with mosaic arthroplasty [Text] / S. Pearce, M. Hurtig, M. Kulra [et al.] // *Arthroscopy.* – 1998. – No. 2. – P. 533–534.

163. Is Local Viscosupplementation Injection Clinically Superior to Other Therapies in the Treatment of Osteoarthritis of the Knee: A Systematic Review of Overlapping Meta-analyses [Electronic resource] / K. A. Campbell, B. J. Erickson, B. M. Saltzman [et al.] // *Arthroscopy.* – 2015 Oct. – No. 31(10). – P. 2036–45.e14. – URL: [https://doi: 10.1016/j.arthro.2015.03.030](https://doi.org/10.1016/j.arthro.2015.03.030). Review. – PubMed PMID: 25998016.

164. Issa, S. N. Epidemiology of osteoarthritis: an update [Text] / S. N. Issa, L. Sharma // *Curr Rheumatol Rep.* – 2006 Feb. – No. 8(1). – P. 7–15.

165. Joint injury and osteoarthritis: soluble mediators in the course and treatment of cartilage pathology [Text] / M. Rutgers, D. Saris, K. G. Yang [et al.] // *Immunotherapy.* – 2009. – No. 1. – P. 435–445.

166. Karlsson, J. Comparison of two hyaluronan drugs and placebo in patients with knee osteoarthritis. A controlled, randomized, double-blind, parallel-design multicentre study [Text] / J. Karlsson, L. S. Sjögren, L. S. Lohmander // *Rheumatology (Oxford).* – 2002. – No. (11). – P. 1240–1248.

167. Kazemi, D. Leukocyte and Platelet Rich Plasma (L-PRP) Versus Leukocyte and Platelet Rich Fibrin (L-PRF) For Articular Cartilage Repair of the Knee: A Comparative Evaluation in an Animal Model [Electronic resource] / D. Kazemi, A. Fakhrijou // Iran Red Crescent Med J. – 2015 Oct 28. – No. 17(10). – e19594. – URL: [https://doi: 10.5812/ircmj.19594](https://doi.org/10.5812/ircmj.19594). – eCollection 2015 Oct 28. PubMed PMID: 26568857; PubMed Central PMCID: PMC4640060.

168. Knee alignment does not predict incident osteoarthritis: the Framingham osteoarthritis study [Text]// Hunter D., Niu J., Felson D. [et al.] // Arthritis Rheum. – 2007. – Vol. 56(4). – P. 1212–1218.

169. Kwon, D. R. The effects of intra-articular platelet-rich plasma injection according to the severity of collagenase-induced knee osteoarthritis in a rabbit model [Text] / D. R. Kwon, G. Y. Park, S. U. Lee // Ann Rehabil Med. – 2012. – No. 36(4). – P. 458–465.

170. Lequesne, M. G. The algofunctional indices for hip and knee osteoarthritis [Text] / M. G. Lequesne // J. Rheumatol. – Vol. 24. – P. 779–781.

171. Lubowitz, J. H. Editorial Commentary: Platelet-Rich Plasma Improves Knee Pain and Function in Patients With Knee Osteoarthritis [Electronic resource] / J. H. Lubowitz // Arthroscopy. – 2015 Nov. – No. 31(11). – P. 2222–2223. – URL: [https://doi: 10.1016/j.arthro.2015.08.022](https://doi.org/10.1016/j.arthro.2015.08.022). – PubMed PMID: 26542203

172. Malfait, A.M. A commentary on modelling osteoarthritis pain in small animals [Text] / A. M. Malfait, C. B. Little, J. J. McDougall // Osteoarthritis and Cartilage. – 2013. – No. 21(9). – 1316–26.

173. Matrix Metalloproteinase 10 Promotion of Collagenolysis via Procollagenase Activation Implications for Cartilage Degradation in Arthritis [Text] / H. E. Barksby, J. M. Milner, A. M. Patterson [et al.] // Arthritis Rheumatism. – 2006. – Vol. 54, No 10. – P. 3244–3253.

174. Matrix metalloproteinase 13 mediates nitric oxide activation of endothelial cell migration [Text] / E. Lopez-Rivera, T. R. Lizarbe, M. Martinez-Moreno [et al.] // PNAS. – 2005. – Vol. 102, No. 10. – P. 3685–3690.

175. Matrix metalloproteinases: inflammatory regulators of cell behaviors in vascular formation and remodeling [Electronic resource] / Q. Chen, J. Min, Y. Feng [et al.] // *Mediators of Inflammation*. – 2013. – Article ID 928315:14.

176. McGrath, M. H. Peptide growth factors and wound healing [Text] / M. H. McGrath // *Clin Plast Surg*. – 1990. – No. 17. – P. 421–432.

177. McMahon, L. A. Biomechanics and mechanobiology in osteochondral tissues [Text] / L. A. McMahon, F. J. O'Brien, P. J. Prendergast // *Regen. Med*. – 2008. – No. 3. – P. 743–759.

178. Mechanical overload induces VEGF in cartilage discs via hypoxia-inducible factor [Text] / T. Pufe, A. Lemke, B. Kurz [et al.] // *Am J Pathol*. – 2004. – No. 164. – P. 185–192.

179. Mechanisms involved in cartilage proteoglycan catabolism [Text] / B. Caterson, C. R. Flannery, C. E. Hughes [et al.] // *Matrix Biol*. – 2000. – Vol. 19. – P. 333–344.

180. Megakaryocytes and platelets [Text] / C. Zucker-Franklin, M. F. Greaves, C. E. Grossi [et al.] // *Atlas of Blood Cells*. – Philadelphia, PA : Lea & Febiger, 1998. – No. 62.

181. Meniscal tear and extrusion are strongly associated with the progresion of knee osteoarthritis as assessed by quantitative magnetic resonance imaging [Text] / M. J. Berthiaume, J. P. Raynald, J. Martel-Pelletier [et al.] // *Ann. Rheum. Dis*. – 2005. – Vol. 64. – P. 556–563.

182. Mishra, A. Treatment of Chronic Elbow Tendinosis With Buffered Platelet-Rich Plasma [Electronic resource] / Allan Mishra, Terri Pavelko // *Am J Sport. Med*. – 2006. – No. 34. – P. 1774. – Originally published online May 30, 2006. – URL: [https://doi: 10.1177/0363546506288850](https://doi.org/10.1177/0363546506288850).

183. MMP-1 activation by serine proteases and MMP-10 induces human capillary tubular network collapse and regression in 3D collagen matrices [Text] / W. B. Saunders, K. J. Bayless, G. E. Davis [et al.] // *J. Cell Science*. – 2005. – Vol. 118. – P. 2325–2340.

184. Molecular basis of anti-inflammatory action of platelet-rich plasma on human chondrocytes: Mechanisms of NF- κ B inhibition via HGF [Text] / P. Bendinelli, E. Matteucci, G. Dogliotti [et al.] // *Journal of Cellular Physiology*. – 2010. – Vol. 225, No. 3. – P. 757–766.

185. Molecular basis of osteoarthritis: biomechanical aspects [Text] / A. Kerin, P. Patwari, K. Kuettner [et al.] // *Cell. Mol. Life Sci.* – 2002. – Vol. 59. – P. 27–35.

186. Morehead, K. Osteoarthritis. What therapies for this disease of many causes? [Text] / K. Morehead, K. E. Sack // *Postgrad. Med.* – 2003. – Vol. 114, No. 5. – P. 11–17.

187. Moreland, L. W. Intra-articular hyaluronan (hyaluronic acid) and hylans for the treatment of osteoarthritis: mechanisms of action [Electronic resource] / L.W. Moreland // *Arthritis Res Ther.* – 2003. – No. 5. – P. 54–67. – URL: <https://doi:10.1186/ar855/>

188. New hope for the treatment of osteoarthritis through selective inhibition of MMP-13 [Text] / N. G. Li, Z. H. Shi, Y. P. Tang [et al.] // *Curr Med Chem.* – 2011. – Vol. 18(7). – P. 977–1001. – Review. PMID:21254976

189. NF-kappa B signaling: multiple angles totarget OA [Text] / K. B. Marcu, M. Otero, E. Olivotto [et al.] // *Curr Drug Targets.* – 2010. – No. 11. – P. 599–561.

190. Normal ranges of angiogenesis regulatory proteins in human platelets. [Text] / J. E. Peterson, D. Zurakowski, J. E. Italiano [et al.] // *Am J Haematol.* – 2010. – No. 85. – P. 487–493.

191. OARSI guidelines for the non-surgical management of knee osteoarthritis [Text] / T. E. McAlindon, R. R. Bannuru, M. C. Sullivan [et al.] // *Osteoarthritis Cartilage.* – 2014. – Vol. 22, No. 3. – P. 363–388.

192. Osteoarthritic Disorders [Text] / K. E. Kuettner, V. M. Goldberg editors. – Rosemont, IL : American Academy of Orthopedic Surgeons, 1995.

193. Pelletier, J. P. Most recent developments in strategies to reduce the progression of structural changes in osteoarthritis: today and tomorrow [Text] / J. P. Pelletier, J. Martel-Pelletier, J. P. Raynauld // *Arthritis Res. Ther.* – 2006. – Vol. 8, No. 2. – P. 206–210.

194. Platelet autologous growth factors decrease the osteochondral regeneration capability of a collagen-hydroxyapatite scaffold in a sheep model [Text] / E. Kon, G. Filardo, M. Delcogliano [et al.] // BMC Musculoskeletal Disorders. – 2010. – Vol. 11. – Article 220.

195. Platelet-released growth factors enhance the secretion of hyaluronic acid and induce hepatocyte growth factor production by synovial fibroblasts from arthritic patients [Text] / E. Anitua, M. Sanchez, A. T. Nurden [et al.] // Rheumatology. – 2007. – No. 46. – P. 1769–1772.

196. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution [Text] / D. M. Dohan, J. Choukroun, A. Diss [et al.] // Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. – 2006. – No. 101(3). – e37–44.

197. Platelet-Rich Plasma and Platelet Gel [Text] / P. Everts, J. Knape, G. Weibrich [et al.] // A Review. – 2006. – No. 38. – P. 174–187.

198. Platelet-rich plasma in orthopaedic applications: evidence-based recommendations for treatment [Text] / W. K. Hsu, A. Mishra, S. R. Rodeo [et al.] // The Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons. – 2013. – Vol. 21, No. 12. – P. 739–748.

199. Platelet-rich plasma intra-articular injection versus hyaluronic acid viscosupplementation as treatments for cartilage pathology: from early degeneration to osteoarthritis [Text] / E. Kon, B. Mandelbaum, R. Buda [et al.] // Arthroscopy. – 2011. – Vol. 27, No. 11. – P. 1490–1501.

200. Platelet-Rich Plasma Intra-articular Knee Injections Show No Superiority Versus Viscosupplementation: A Randomized Controlled Trial [Electronic resource] / G. Filardo, B. Di Matteo, A. Di Martino [et al.] // Am JSports Med. – 2015 Jul. – No. 43(7). – P. 1575–1582. – URL: [https://doi: 10.1177/0363546515582027](https://doi.org/10.1177/0363546515582027). – PubMed PMID: 25952818.

201. Platelet-rich plasma treatment in symptomatic patients with knee osteoarthritis: preliminary results in a group of active patients [Text] / Gobbi, G. Karnatzikos, V. Mahajan [et al.] // Sports Health. – – 2012. – Vol. 4, No. 2. – P. 162–172.

202. Platelet-rich plasma vs hyaluronic acid to treat knee degenerative pathology: study design and preliminary results of a randomized controlled trial [Text] / G. Filardo, E. Kon, A. di Martino [et al.] // BMC Musculoskeletal Disorders. – 2012. – Vol. 13. – Article 229.

203. Platelet-rich plasma: Growth factors and pro- and anti-inflammatory properties [Text] / H. El-Sharkawy, A. Kantarci, J. Dedy [et al.] // Periodontol. – 2007. – No. 78. – P. 661–669.

204. Platelet-rich plasma: why intra-articular? A systematic review of preclinical studies and clinical evidence on PRP for joint degeneration [Text] / G. Filardo, E. Kon, A. Roffi [et al.] // Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc. – 2015. – No. 23. – P. 2459–2474.

205. Preventive effects of hyaluronan from deterioration of gait parameters in surgically induced mice osteoarthritic knee model [Electronic resource] / Y. Muramatsu, T. Sasho, M. Saito [et al.] // Osteoarthritis Cartilage. – 2014 Jun. – No. 22(6). – P. 831–835. – URL: [https://doi: 10.1016/j.joca.2014.03.016](https://doi.org/10.1016/j.joca.2014.03.016). – PubMed PMID: 24704496.

206. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohisto-chemical analysis [Text] / D. C. Allred, J. M. Harvey, M. Berardo [et al.] // Mod Pathol. – 1998. – No. 11(2). – P. 155–168.

207. Protective Nature of Platelet-Rich Plasma Against Chondrocyte Death When Combined With Corticosteroids or Local Anesthetics [Electronic resource] / T. J. Durant, C. R. Dwyer, M. B. McCarthy [et al.] // Am J Sports Med. – 2017 Jan. – No. 45(1). – P. 218–225. – URL: [https://doi: 10.1177/0363546516664161](https://doi.org/10.1177/0363546516664161). – Epub 2016 Oct 1. – PubMed PMID: 27582279

208. Proteinkinase C delta null mice exhibit structural alterations in articular surface, intra-articular and subchondral compartments [Text] / X. Yang, D. Teguh, J. P. Wu [et al.] // Arthritis Res. Ther. – 2015. – No. 17. – P. 210.

209. Rabie, A. B. Cbfa1 couples chondrocytes maturation and endochondral ossification in rat mandibular condylar cartilage. [Text] / A. B. Rabie, G. H. Tang, U. Hagg // Arch. Oral Biol. – 2004. – No. 49. – P. 109–118.

210. Randomized controlled trial comparing hyaluronic acid, platelet-rich plasma and the combination of both in the treatment of mild and moderate osteoarthritis of the knee [Text] / J. F. Lana, A. Weglein, S. E. Sampson [et al.] // J Stem Cells Regen Med. – 2016 Nov 29. – No. 12(2). – P. 69–78. – eCollection. – 2016 Nov 29 PubMed PMID: 28096631; PubMed Central PMCID: PMC5227106.

211. Recent advances in TGF- β effects on chondrocyte metabolism – Potential therapeutic roles of TGF- β in cartilage disorders. [Text] / E. Grimaud, D. Heymann, F. Redini [et al.] // Cytokine Growth Factor Rev. – 2002. – No. 13. – P. 241–257.

212. Regenerative potential of platelet-rich plasma enhanced by collagen in retrieving pro-inflammatory cytokineinhibited chondrogenesis [Text] / C. C. Wu, W. H. Chen, B Zao [et al.] // Biomaterials. – 2011. – No. 32. – P. 5847–5854.

213. Repair of massively defected hemi-joints using demineralized osteoarticular allografts with protected cartilage [Text] / S. Li, X. Yang, S. Tang [et al.] // J. Mater. Sci. Mater. Med. – 2015. – No. 26. – P. 277.

214. Role of Matrix Metalloproteinases and Therapeutic Benefits of Their Inhibition in Spinal Cord Injury [Text] / H. Zhang, M. Chang, C. N. Hansen [et al.] // Neurotherapeutics. – 2011. – Vol. 8. – P. 206–220.

215. Safety and efficacy of US-approved viscosupplements for knee osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis of randomized, saline-controlled trials [Electronic resource] / V. Strand, L. F. McIntyre, W. R. Beach [et al.] // J Pain Resm 2015 May 7. – No. 8. – P. 217–228. – URL: [https://doi: 10.2147/JPR.S83076](https://doi.org/10.2147/JPR.S83076). Review. – PubMed PMID: 26005358; PubMed Central PMCID: PMC4428363.

216. Safety study of intraarticular injection of IL-1 receptor antagonist in patients with painful knee osteoarthritis: a multicenter study [Text] / X. Chevalier, B. Girardeau, T. Conzorer [et al.] // J. Rheumatol. – 2005. – Vol. 32. – P. 1317–1323.

217. Scale, D. Viscosupplementation of osteoarthritic knees with hylan: a treatment schedule study [Text] / D. Scale, M. Wobig, W. Wolpert // Curr. Ther. Res. – 1994. – Vol. 55. – P. 220–232.

218. Sclareol exerts anti-osteoarthritic activities in interleukin-1 β -induced rabbit chondrocytes and a rabbit osteoarthritis model. [Text] / Y. Zhong, Y. Huang,

M. B. Santoso [et al.] // *Int J Clin Exp Pathol.* – 2015 Mar 1. – No. 8(3)0. – P. 2365–2374. – PubMed PMID: 26045743; PubMed Central PMCID: PMC4440052

219. Sellam, J. The role of synovitis in pathophysiology and clinical symptoms of osteoarthritis [Text] / J. Sellam, F. Berenbaum // *Nat Rev Rheumatol.* – 2010. – No. 6. – P. 625–635.

220. Sixma Activated platelets release two types of membrane vesicles: microvesicles by surface shedding and exosomes derived from exocytosis of multivesicular bodies and alpha-granules [Text] / H. F. G. Heijnen, A. E. Schiel, R. Fijnheer [et al.] // *Blood.* – 1999. – Vol. 94, No. 11. – P. 3791–3799.

221. Sorokin, L. The impact of the extracellular matrix on inflammation [Text] / L. Sorokin // *Nat Rev.* – 2010. – No. 10. – P. 712–723.

222. TGF- β is required for vascular barrier function, endothelial survival and homeostasis of the adult microvasculature. [Text] / T. E. Walshe, M. Saint-Geniez, A. S. R. Maharaj [et al.] // *PLoS One.* – 2009. – No. 4. – e5149.

223. TGF- β gene transfer in articular chondrocytes: implication for improvement in cartilage regeneration after chondral injuries [Text] / H. D. Moeller, F. Shuler, P. D. Robbins [et al.] // *Arthroscopy.* – 1999. – No. 5. – P. 531.

224. The Chondrocyte Biology and Clinical Application [Text] / Zhen Lin, Craig Willers, Jiake Xu [et al.] // *Tissue Engineering.* – 2006. – Vol. 12, No.7. – P. 314–318.

225. The CXC-chemokine platelet factor 4 promotes monocyte survival and induces monocyte differentiation into macrophages [Text] / B. Scheuerer, M. Ernst, I. Durrbaum-Landmann [et al.] // *Blood.* – 2000. – No. 95. – P. 1158–1166.

226. The dual personalities of matrix metalloproteinases in inflammation [Text] / Nghia T. V. Le, Meilang Xue, Laura A. Castelnoble [et al.] // *Front Biosci.* – 2007. – Vol. 12. – P. 1475–1487.

227. The effect of platelet rich plasma combined with microfractures on the treatment of chondral defects: an experimental study in a sheep model [Text] / G. Milano, E. Sanna Passino, L. Deriu [et al.] // *Osteoarthritis Cartil.* – 2010. – No. 18(7). – P. 971–980.

228. The effect of platelet-rich plasma on pain, function, and quality of life of patients with knee osteoarthritis [Text] / S. A. Raeissadat, S. M. Rayegani, M. Babaee [et al.] // Pain Research and Treatment. – 2013. – Vol. 2013. – Article ID 165967. – P. 7.

229. The effect of platelet-rich plasma on the regenerative therapy of muscle derived stem cells for articular cartilage repair [Text] / Y. Mifune, T. Matsumoto, K. Takayama [et al.] // Osteoarthritis Cartil. – 2013. – No. 21(1). – P. 175–185.

230. The efficacy of platelet-rich plasma in the treatment of symptomatic knee osteoarthritis: a systematic review with quantitative synthesis [Text] / A. Khoshbin, T. Leroux, D. Wasserstein [et al.] // Arthroscopy. – 2013. – No. 12. – P. 2037–2048.

231. The history of matrix metalloproteinases: milestones, myths, and misperceptions [Text] / R. P. Iyer, N. L. Patterson, G. B. Fields [et al.] // Am J Physiol Heart Circ Physiol. – 2012. – No. 17.

232. The hyaluronic acid-HDAC3-miRNA network in allergic inflammation Department of Biochemistry [Electronic resource] / Youngmi Kim, Sangkyung Eom, Deokbum Park [et al.] // College of Natural Sciences, Kangwon National University, Chuncheon, South Korea Front. Immunol. – 30 April 2015. – URL: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00210>

233. The infrapatellar fat pad should be considered as an active osteoarthritic joint tissue: a narrative review [Text] / S. Clockaerts, Y. M. Bastiaansen-Jenniskens, J. Runhaar [et al.] // Osteoarthritis Cartilage. – 2010. – No. 18. – P. 876–882.

234. The prevalence of knee osteoarthritis in the elderly. the framingham osteoarthritis study [Text] / D. T. Felson, A. Naimark, J. Anderson [et al.] // Arthritis & Rheumatism. – 1987. – No. 30. – P. 914–918.

235. The role of synovial macrophages and macrophage produced mediators in driving inflammatory and destructive responses in osteoarthritis [Text] / J. Bondeson, A. B. Blom, S. Wainwright [et al.] // Arthritis Rheum. – 2010. – No. 62. – P. 647–657.

236. The temporal effect of platelet-rich plasma on pain and physical function in the treatment of knee osteoarthritis: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials [Electronic resource] / L. Shen, T. Yuan, S. Chen

[et al.] // J Orthop Surg Res. – 2017 Jan 23. – No. 12(1). – P. 16. – URL: [https://doi:10.1186/s13018-017-0521-3](https://doi.org/10.1186/s13018-017-0521-3). – PubMed PMID: 28115016; PubMed Central PMCID: PMC5260061.

237. Treatment with platelet-rich plasma is more effective than placebo for knee osteoarthritis: a prospective, double-blind, randomized trial [Text] / S. Patel, M. S. Dhillon, S. Aggarwal [et al.] // Am J Sports Med. – 2013. – No. 41. – P. 356–364.

238. Treatment of experimentally induced osteoarthritis in horses using an intravenous combination of sodium pentosan polysulfate, N-acetyl glucosamine, and sodium hyaluronan [Electronic resource] / T. J. Koenig, A. J. Dart, C. W. McIlwraith [et al.] // Vet Surg. – 2014 Jul. – No. 43(5). – P. 612–622. – URL: [https://doi:10.1111/j.1532-950X.2014.12203.x](https://doi.org/10.1111/j.1532-950X.2014.12203.x). – PubMed PMID: 24819506.

239. Treatment of posttraumatic and focal osteoarthritic cartilage defects of the knee with autologous polymer-based three-dimensional chondrocyte grafts: 2-year clinical results [Text] / C. Kaps, P. C. Kreuz, G. R. Burmester [et al.] // Arthritis Research & Therapy. – 2007. – Vol. 9. – P. 1186–2180.

240. Trigkilidas, D. The effectiveness of hyaluronic acid intra-articular injections in managing osteoarthritic knee pain [Electronic resource] / D. Trigkilidas, A. Anand // Ann R Coll Surg Engl. – 2013 Nov. – No. 95(8). – P. 545–551. – URL: [https://doi:10.1308/003588413X13629960049432](https://doi.org/10.1308/003588413X13629960049432). Review. – PubMed PMID: 24165334; PubMed Central PMCID: PMC4311527.

241. Vandercapellen, J. The role of CXC chemokines platelet factor-4 (CXCL4/PF4) and its variant (CXCLaL1/PF-avar) in inflammation, angiogenesis and cancer [Text] / J. Vandercapellen, J. Van Damme, S. Struyf // Cytokine Growth Factor Rev. – 2011. – No. 22. – P. 1–18.

242. Variability in Melanoma Metalloproteinase Expression Profiling [Text] / O. Giricz, J. L. Lauer, G. B. Fields [et al.] // J. Biomolecular Techniques. – 2010. – Vol. 21. – P. 194–204.

243. Viscosupplementation for osteoarthritis of the knee: a systematic review and meta-analysis [Electronic resource] / A. W. Rutjes, P. Jüni, B. R. da Costa [et al.] // Ann

Intern Med. – 2012 Aug 7. – No. 157(3). – P. 180–191. – URL: [https://doi: 10.7326/0003-4819-157-3-201208070-00473](https://doi.org/10.7326/0003-4819-157-3-201208070-00473). Review. – PubMed PMID: 22868835.

244. Viscosupplementation for Osteoarthritis of the Knee: A Systematic Review of the Evidence [Electronic resource] / D. Jevsevar, P. Donnelly, G. A. Brown [et al.] // J Bone Joint Surg Am. – 2015 Dec 16. – No. 97(24). – P. 2047–2060. – URL: [https://doi: 10.2106/JBJS.N.00743](https://doi.org/10.2106/JBJS.N.00743). Review. – PubMed PMID: 26677239.

245. Viscosupplementation of the knee: Three cases of acute Pseudoseptic Arthritis with painful and irritating complications and a literature review [Electronic resource] / M. Aydın, M. Arıkan, G. Toğral [et al.] // Eur J Rheumatol. – 2017 Mar. – No. 4(1). – P. 59–62. – URL: [https://doi: 10.5152/eurjrheum.2016.15075](https://doi.org/10.5152/eurjrheum.2016.15075). – Epub 2017 Mar 1. – PubMed PMID: 28293455; PubMed Central PMCID: PMC5335889.

246. Ware, J. E. Jr. The MOS 36-item Short Form Health Survey (SF-36). 1 Conceptual frame-work and item selection [Text] / J. E. Jr. Ware, C. D. Sherbourne // Med.Care. – 2002. – Vol. 30. – P. 473–481.

247. Wasiak, J. Autologous cartilage implantation for full thickness articular cartilage defects of knee [Text] / J. Wasiak, C. Clar, E. Villanueva // Cochrane Database Syst Rev. – 2006 Jul 19. – No. 3. – CD 003323.

248. Woolf, A. D. Burden of major musculoskeletal conditions [Text] / A. D. Woolf, B. Pfleger // Bulletin of the World Health Organization. – 2003. – Vol. 81. – P. 646–656.

249. Angiogenesis and nerve growth factor at the osteochondral junction in rheumatoid arthritis and osteoarthritis [Text] / D. A. Walsh, D. F. McWilliams, M. J. Turley [et al.] // Rheumatology. – 2010. – No. 49. – P. 1852–1861.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ББК	– большеберцовая кость
БК	– бедренная кость
ВАШ	– визуально-аналоговая шкала боли
ВСТ	– вискозапплементарная терапия
ВШОЭЛ	– вербальная шкала оценки эффективности лечения
ГК	– гиалуроновая кислота
ИЛ	– интерлейкин
КИ	– клиническое исследование
КСА	– капсульно-связочный аппарат
ММП	– матричная металлопротеаза
НПВС	– нестероидные противовоспалительные средства
ОА	– остеоартроз
ОТП	– обогащенная тромбоцитами аутологичная плазма
СГХ	– суставной гиалиновый хрящ
СЖ	– синовиальная жидкость
ТИМП	– тканевой ингибитор металлопротеиназ
ФНО- α	– фактор некроза опухолей альфа
μ l	– микролитр
CTGF/CCN ₂	– фактор роста соединительной ткани
HGF	– гепатоцитарный фактор роста
HIF-1 α	– индуцированный гипоксией фактор роста 1 α
NF-kB	– ядерный фактор каппа В
PDGF	– тромбоцитарный фактор роста
PF4	– тромбоцитарный фактор 4
PGE ₂	– простагландин E ₂
TGF- β	– трансформирующий фактор роста бета
VEGF	– фактор роста эндотелия сосудов

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

ИНФОРМАЦИОННЫЙ ЛИСТОК ПАЦИЕНТА

Название исследования	Аутологичная обогащенная тромбоцитами плазма в лечении пациентов с остеоартрозом коленного сустава (клинико-экспериментальное исследование)
Исследователь	Демкин Сергей Анатольевич
Цель исследования	Улучшить результаты консервативного лечения пациентов с остеоартрозом коленного сустава путем применения предварительно экспериментально обоснованной методики внутрисуставного введения аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы
Сведения о характере (этиологии и патогенезе) исследуемого заболевания	Остеоартроз – хроническое заболевание суставов неизвестной этиологии, в основе которого лежит поражение всех компонентов сустава, в первую очередь хряща, а также субхондральной кости, синовиальной оболочки, связок, капсулы и периартикулярных тканей. Распространенность остеоартроза в популяции – 6 %; согласно обобщенным статистическим данным, частота встречаемости остеоартроза составляет до 45 % у лиц моложе 50 лет, а в пожилом и старческом возрасте первичным гонартрозом страдают до 82,9 % пациентов. При этом у каждого второго больного отмечается снижение трудоспособности, а до 10–15 % признаются медико-социальной экспертной комиссией инвалидами в связи со стойкими статодинамическими нарушениями
Необходимые методы обследования (диагностики)	Общеклиническое врачебное обследование. Осмотр, ощупывание (пальпация), определение движений больного и здорового коленных суставов. Рентгенография коленного сустава
Методы лечения	Общепринятые методы лечения в настоящее время: Консервативное лечение: 1. Нефармакологические методы лечения: – образование пациента (обучение больного правильной физической нагрузке, изменение образа жизни, обучение защиты суставов во время ежедневной активности), изменение сложившихся двигательных стереотипов, физические упражнения для укрепления мышц и аэробные упражнения;

ИНФОРМАЦИОННЫЙ ЛИСТОК ПАЦИЕНТА (продолжение)

Методы лечения	1. Нефармакологические методы лечения: – ортопедическая коррекция (ношение ортезов, эластическая иммобилизация суставов, ходьба с помощью трости); – модификация окружения (организация быта и профессиональной деятельности); – снижение массы тела; – физиотерапия; – санаторно-курортное лечение. 2. Фармакологические методы лечения: – симптоматические средства (НПВС, применение мазей или кремов на основе нестероидных противовоспалительных препаратов), внутрисуставные инъекции глюкокортикостероидов; – препараты, модифицирующие течение остеоартроза: (глюкозамина сульфат – Дона, хондроитин-6 сульфат – Структум, Хондроитин-АКОС и др.); – вискозапплементарная терапия (внутрисуставное введение препаратов гиалуроновой кислоты – «протезов синовиальной жидкости»); – внутрисуставное введение аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы. Оперативное лечение: – малоинвазивная методика с использованием артроскопа, (введение через небольшие проколы в сустав видеокамеры, осмотр и коррекция суставных поверхностей сустава, диагностика поврежденных связок и менисков коленного сустава, восстановление поврежденных мягкотканых структур при помощи специальных швов), ранняя реабилитация (восстановительное лечение). В настоящее время данные методы являются альтернативными и имеют сопоставимые результаты
Положительные и отрицательные стороны консервативного лечения	Положительные стороны: общедоступность (возможность применения у всех групп пациентов); отсутствие осложнений, связанных с операцией и анестезией. Отрицательные стороны: при выраженных дегенеративных изменениях сустава консервативная терапия малоэффективна

ИНФОРМАЦИОННЫЙ ЛИСТОК ПАЦИЕНТА (продолжение)

Положительные и отрицательные стороны оперативного лечения	Положительные стороны: метод выбора при неэффективности консервативной терапии. Отрицательные стороны: возможность развития осложнений, связанных с общей анестезией и операцией; потенциальный риск возникновения осложнений минимальный, не отличающийся от риска обычного оперативного лечения
Возможные осложнения и методы их коррекции при консервативном лечении	Побочные явления при применении НПВС (гастропатии, нефропатии). Развитие инфекционных осложнений при внутрисуставных инъекциях препаратов гиалуроновой кислоты и аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы. Обострение синовита, нарастание деструкции хряща и кости вплоть до асептических некрозов при применении внутрисуставных инъекций стероидных препаратов. Безуспешность консервативных методов лечения, прогрессирование деформирующего артроза коленного сустава, что может потребовать артроскопической операции или замены сустава (эндопротезирование)
Для участия в настоящем исследовании Вы должны	Ознакомиться с «Информационным листком пациента». Пройти необходимое обследование. Ознакомившись с положительными и отрицательными сторонами консервативного лечения и задав при необходимости дополнительные вопросы врачу, проводящему исследование, выбрать наиболее подходящий для себя способ лечения и письменно заверить свое решение. Соблюдать режим в ходе лечения, регулярно принимать назначенные препараты и процедуры, соблюдать график посещений лечащего врача при амбулаторном наблюдении, немедленно сообщать врачу о любом ухудшении самочувствия, согласовывать с врачом прием любых не прописанных препаратов и процедур
Срок проведения исследования	В течение госпитализации или амбулаторного лечения. Контроль состояния пациента с гонартрозом I-II стадии лечащим врачом посредством телефонных контактов через 1, 3, 6, 12 месяцев или контрольных осмотров через 1, 3, 6, 12 месяцев Для пациентов с гонартрозом III-IV стадии контроль состояния лечащим врачом посредством телефонных контактов через 3,6,9 недель или контрольных осмотров через 3,6,9, недель

ИНФОРМАЦИОННЫЙ ЛИСТОК ПАЦИЕНТА (окончание)

Ожидаемые результаты исследования	На основании полученных данных будет сделано заключение о выраженности противовоспалительного эффекта аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы, об оптимальных сроках, стадиях ее введения в коленный сустав. Полученные в ходе исследовательских работ данные должны стать основанием для более широкого внедрения аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы в лечение гонартроза в клиническую практику
Конфиденциальность участия в исследовании и доступ к медицинской документации	Данные о Вашем состоянии являются конфиденциальной информацией и могут быть просмотрены только уполномоченными лицами
Права участника	Вы имеете полное право: На получение любой информации относительно состояния своего здоровья и результатов обследования. Отказаться от участия в данном исследовании или, в случае Вашего согласия, изменить решение в любой момент, и Ваш уход не окажет влияния на Ваше дальнейшее медицинское обслуживание
Соответствие законодательству	Данное исследование разработано в соответствии с международным и российским законодательным актами о юридических и этических принципах медико-биологических исследований у человека: • Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Рекомендации для врачей, занимающихся биомедицинскими исследованиями с участием людей»; • Конституции Российской Федерации (12.12.93 г.); • Федеральному закону «Основы законодательства Российской Федерации об охране здоровья граждан» от 22.07.93 г.; • Стандарту отрасли ОСТ 42-511–99 «Правила проведения качественных клинических испытаний в Российской Федерации» от 29.12.98 г.

ПРИЛОЖЕНИЕ 2

ИНФОРМИРОВАННОЕ СОГЛАСИЕ НА УЧАСТИЕ В КЛИНИЧЕСКОМ ИССЛЕДОВАНИИ

Я _____ понимаю, что остеоартроз – хроническое заболевание суставов неизвестной этиологии, в основе которого лежит поражение всех компонентов сустава, в первую очередь – хряща, а также субхондральной кости, синовиальной оболочки, связок, капсулы и периартикулярных тканей.

Я понимаю, что вискоасплиментарная терапия (внутрисуставное введение препаратов гиалуроновой кислоты – «протезов синовиальной жидкости») и внутрисуставное введение аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы – новый метод лечения, и в современной литературе нет достаточных данных об их эффективности.

Я понимаю, что возможно развитие осложнений при внутрисуставных инъекциях препаратов гиалуроновой кислоты (вискоасплементарная терапия) и аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы, как то: инфекционные осложнения, обострение синовита, безуспешность консервативных методов лечения, прогрессирование деформирующего артроза коленного сустава, что может потребовать артроскопической операции или замены сустава (эндопротезирование).

Для участия в настоящем исследовании я обязуюсь пройти необходимое обследование. Ознакомившись с положительными и отрицательными сторонами консервативного лечения и задав при необходимости дополнительные вопросы врачу, проводящему исследование, я обязуюсь выбрать наиболее подходящий для себя способ лечения и письменно заверить свое решение, соблюдать режим в ходе лечения, регулярно принимать назначенные препараты и процедуры, соблюдать график посещений лечащего врача при амбулаторном наблюдении, немедленно сообщать врачу о любом ухудшении самочувствия, согласовывать с врачом прием любых

непрописанных препаратов и процедур, проходить обследование в течение госпитализации или амбулаторного лечения. Понимаю, что обогащенная тромбоцитами аутогенная плазма приготавливается только из собственной крови путем двойного центрифугирования – 1 800 и 3400 об./мин соответственно, с использованием стерильных пробирок. Контроль состояния больного лечащим врачом посредством телефонных контактов через 1, 3, 6, 12 месяцев или контрольный осмотр через 1, 3, 6, 12 месяцев после проведенного исследования для пациентов с гонартрозом I-II стадии. Контроль состояния больного лечащим врачом посредством телефонных контактов через 3, 6, 9, недель или контрольный осмотр через 3, 6, 9, недель после проведенного исследования для пациентов с гонартрозом III-IV стадии.

Мне известно, что данные о моем состоянии являются конфиденциальной информацией и могут быть просмотрены только уполномоченными лицами. Я добровольно соглашаюсь, чтобы мои данные, полученные в ходе исследования, использовались в научных целях и были опубликованы с условием соблюдения правил конфиденциальности.

Я понимаю, что могу в любое время по моему желанию отказаться от дальнейшего участия в исследовании, и если я это сделаю, то это не повлияет на мое последующее лечение и внимание врачей. Я имею полное право на получение любой информации относительно состояния своего здоровья и результатов обследования. У меня было достаточно времени, чтобы принять решение об участии в исследовании. Я прочитал(а) информацию о научном исследовании «Аутогенная обогащенная тромбоцитами плазма в лечении пациентов с остеоартрозом коленного сустава», понял(а) его содержание и я согласен(а) участвовать в исследовании.

Ф. И. О. пациента (печатными буквами)

Дата и время

Подпись пациента

Ф. И. О. врача-исследователя (печатными буквами) Дата и время

Подпись врача-исследователя

ПРИЛОЖЕНИЕ 3
КАРТА ОБСЛЕДОВАНИЯ БОЛЬНОГО С ОСТЕОАРТРОЗОМ
КОЛЕННОГО СУСТАВА

Дата _____

Ф. И. О. _____

ПОЛ: М/Ж Дата рождения: _____

DS: _____

Давность заболевания: _____

Вводимый препарат (подчеркнуть): аутологичная обогащенная тромбоцитами плазма, препарат гиалуроновой кислоты («РусВиск»).

Сроки наблюдения (подчеркнуть): до введения, 1 месяц, 3 месяца, 6 месяцев, 1 год.

1. РЕНТГЕНОЛОГИЧЕСКАЯ КЛАССИФИКАЦИЯ ОСТЕОАРТРОЗА ПО J. KELLGREN, J. LAWRENCE (1957):

0 СТАДИЯ – ИЗМЕНЕНИЯ ОТСУТСТВУЮТ;

1 СТАДИЯ – СОМНИТЕЛЬНЫЕ РЕНТГЕНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ;

2 СТАДИЯ – МИНИМАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ (НЕБОЛЬШОЕ СУЖЕНИЕ СУСТАВНОЙ ЩЕЛИ, ЕДИНИЧНЫЕ ОСТЕОФИТЫ);

3 СТАДИЯ – УМЕРЕННЫЕ ПРОЯВЛЕНИЯ (УМЕРЕННОЕ СУЖЕНИЕ СУСТАВНОЙ ЩЕЛИ, МНОЖЕСТВЕННЫЕ ОСТЕОФИТЫ);

4 СТАДИЯ – ВЫРАЖЕННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ (СУСТАВНАЯ ЩЕЛЬ ПОЧТИ НЕ ПРОСЛЕЖИВАЕТСЯ, ГРУБЫЕ ОСТЕОФИТЫ).

2. ШКАЛА ВЕРБАЛЬНОЙ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ (оценивается пациентом):

0 – НЕТ ЭФФЕКТА;

1 – ЭФФЕКТ СЛАБЫЙ;

2 – ЭФФЕКТ УДОВЛЕТВОРИТЕЛЬНЫЙ;

3 – ЭФФЕКТ ХОРОШИЙ;

4 – ЭФФЕКТ ОТЛИЧНЫЙ.

3. 100-БАЛЛЬНАЯ ВИЗУАЛЬНО-АНАЛОГОВАЯ ШКАЛА БОЛИ:

Отсутствие боли – 0–5 баллов;

Незначительная боль – 6–35 баллов;

Умеренная боль – 36–60 баллов;

Сильная боль – 61–75 баллов;

Резко выраженная боль – 76–100 баллов.

Итого:

4. ИНДЕКС ТЯЖЕСТИ ГОНАРТРОЗА (ШКАЛА ЛЕКЕНА)

Боль	Баллы
Ночная боль:	
– только при движениях или в определённом положении;	1
– даже без движений	2
Утренняя скованность или боль после вставания с постели:	
– менее 5 минут и более;	1
– 15 минут и более	2
Усиление боли после стояния в течение 30 минут	1
Боль возникает при ходьбе:	
– только после прохождения определённой дистанции;	1
– с самого начала и затем усиливается	2
Боль или дискомфорт при вставании из положения сидя	1

Максимальная дистанция при ходьбе без боли:	
– более 1 км, но с ограничениями;	1
– около 1 км;	2
– от 500 до 900 м;	3
– от 300 до 500 м;	4
– от 100 до 300 м;	5
– менее 100 м;	6
– с одной тростью или костылём;	+ 1
– с двумя тростями или костылями;	+ 2

Окончание таблицы

Боль	Баллы
Наличие трудностей в повседневной жизни:	
Можете ли Вы пройти вверх на один пролёт лестницы?	0–2
Можете ли Вы пройти вниз на один пролёт лестницы?	0–2
Можете ли Вы убрать что-либо на нижнюю полку шкафа, стоя на коленях?	0–2
Испытываете ли Вы стреляющие боли и/или внезапное ощущение потери опоры в пораженной конечности?	0–2
Можете ли Вы идти по неровной дороге?	0–2

Градации ответов: просто – 0; с трудом – 1; невозможно – 2.

Тяжесть остеоартроза:

1–4 – слабая	5–7 – средняя	8–10 – выраженная
11–12 – значительно выраженная	более 12 – резко выраженная	