

На правах рукописи

ЕРМОШКИНА ТАМАРА ВАСИЛЬЕВНА

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ДИСТРАКЦИОННО-
КОМПРЕССИОННОГО ОСТЕОГЕНЕЗА ТРУБЧАТЫХ КОСТЕЙ У СОБАК И
ОСОБЕННОСТИ ЕГО ГУМОРАЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ

16.00.05 – ветеринарная хирургия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертация на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Казань, 2006 г.



Работа выполнена в ФГОУ ВПО «Уральская государственная академия ветеринарной медицины» и Российском научном центре «Восстановительной травматологии и ортопедии им. Г.А.Илизарова»

Научный руководитель: доктор ветеринарных наук, профессор,
Концевая Светлана Юрьевна

Официальные оппоненты: доктор ветеринарных наук, профессор
Безин Александр Николаевич
доктор ветеринарных наук, профессор
Ермолаев Валерий Аркадьевич

Ведущая организация: ФГОУ ВПО «Оренбургский государственный аграрный университет»

Защита диссертации состоится «26» 09 2006 г. в 14⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 220.034.02 при ФГОУ ВПО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины» (420074, Казань, ул. Сибирский тракт, 35, КГАВМ).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины»

Автореферат разослан «18» 08 2006 года

Ученый секретарь
диссертационного совета



И.Г.Галимзянов

1. ВВЕДЕНИЕ

АКТУАЛЬНОСТЬ ИССЛЕДОВАНИЙ Животные являются неотъемлемой частью жизни многих людей, их здоровье прямым образом отражается на здоровье и эмоциональном состоянии владельцев. В последние годы, в ветеринарии, для лечения заболеваний и травм скелета у мелких домашних животных, стал широко применяться метод чрескостного компрессионно-дистракционного остеосинтеза (ЧКДО) (Аболина А.Е. с соавт., 1993; Десятниченко К.С. с соавт., 1995; Илизаров Г.А., 1971; 1984; Концевая С.Ю. с соавт., 1999; Стецула В.И., 1965; Тимофеев С.В. с соавт., 2001; Шевцов В.И. с соавт., 1996; Шрейнер А.А. с соавт., 1998).

С его внедрением в ветеринарную практику появились принципиально новые возможности фиксации костных отломков и замещения обширных костных дефектов аппаратом Г.А. Илизарова и использование открытого им в 1963 г. феномена удлинения костной ткани методом дозированного растяжения. Метод широко известен в травматологии и ортопедии. Однако, наряду с этим, при использовании известных способов остеосинтеза, разработанных в медицине, отмечается значительный процент неудовлетворительных результатов, так как прямое перенесение этих методик в ветеринарную хирургию трудоемко в связи с различием анатомического строения скелета у человека и животных.

В последние годы определены основные принципы применения этого метода в экспериментальной и клинической ветеринарной практике (Дерхо М.А. с соавт., 2004; Штин В.П., 1974). Однако дальнейшее решение этой проблемы напрямую связано с проблемой регуляции репаративного остеогенеза, которая включает несколько тесно взаимосвязанных между собой аспектов, обычно действующих в комплексе. К ним относят гормональные, нервные, функционально-адаптивные, иммунологические и другие регуляторные механизмы восстановления (Бабаева А.Г., 1979; Дерхо М.А. с соавт., 2004; Десятниченко К.С., 1994; 1998; Панков Е.Я. с соавт., 1992; Русаков А.В., 1971; Соловьев, Г.С., 1983; Студитский А.Н., 1994). В системной регуляции дистракционного остеогенеза главная роль отводится нейрогормональному пути, осуществляющемуся с помощью остеотропных гормонов. Были получены данные об участии в регуляции костеобразования и поддержании «скелетного» гомеостаза гормона роста (ГР), тиреоидного гормона (ТТГ), кортикостероидов (КС), андрогенов, эстрогенов, простагландинов, циклических нуклеотидов (Дерхо М.А. с соавт., 1999; Лукьяновский В.А. с соавт., 1984; Матвеев В.Н. с соавт., 1977; Шевцов В.И. с соавт., 1995; Pettis A.D. et. al., 1976).

Поэтому необходимы дальнейшие исследования, направленные на изучение возможностей выполнения различных вариантов и темпов дистракции при замещении костных дефектов; особенностей их нейрогуморальной регуляции.

ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЙ. Цель данной работы – дать экспе-

риментальное обоснование выполнения ЧКДО с темпом distraction 1 и 2 мм в сутки и одномоментной компрессионной новообразованного регенерата у собак и изучить особенности гуморальной регуляции distractionного остеогенеза.

Для реализации поставленной цели необходимо решить следующие задачи:

1. Дать экспериментальное обоснование выполнения ЧКДО на трубчатых костях собак с темпом distraction 1 и 2 мм в сутки на основе клинико-рентгенологических методов исследования.
2. Изучить роль кроветворной системы в механизме костеобразования distractionного регенерата
3. Определить реакцию иммунной системы организма собак на экспериментальную травму и distraction трубчатой кости.
4. Выявить особенности нейрогормональной регуляции distractionного остеогенеза.

НАУЧНАЯ НОВИЗНА. Получены новые клинико-рентгенологические данные характеризующие: процесс формирования distractionного регенерата с темпом удлинения 1 и 2 мм в сутки с последующей одномоментной компрессионной; функциональное состояние эндокринной и иммунной систем собак на важнейших этапах distractionно-компрессионного остеогенеза. Впервые определены параметры содержания в плазме крови собак остеотропных гормонов, циклических нуклеотидов, установлена их динамика в ходе регенерации. Установлена связь между уровнем остеотропных гормонов, циклических нуклеотидов, показателей клеточного, гуморального иммунитета и стадией distractionно-компрессионного остеогенеза, которая может быть использована для более объективной оценки функционального состояния гуморальной регуляции, а также при разработке методов фармастимуляции и коррекции остеогенеза. Полученный экспериментальный материал дополняет имеющиеся в литературе данные о механизме гуморальной регуляции формирования костной ткани собак в условиях репаративной регенерации.

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ И ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ИССЛЕДОВАНИЙ. Материалы исследований позволили расширить и углубить знания о механизме восстановительного процесса в костной ткани собак в условиях distractionного остеогенеза, а также о механизме гормональной регуляции процесса регенерации, изменении иммунного статуса организма собак под действием экспериментальной травмы.

На основании проведенных исследований получены нормативные данные содержания в крови собак остеотропных гормонов и циклических нуклеотидов, показателей клеточного и гуморального иммунитета.

ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ, ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ:

- экспериментальное обоснование ЧКДО на трубчатых костях собак с темпом distraction 1 и 2 мм в сутки на основе клинико-рентгенологических методов исследования.
- роль кроветворной и иммунной систем в механизме костеобразования

дистракционного регенерата.

- особенности нейрогормональной регуляции дистракционного остеогенеза.

АПРОБАЦИЯ РАБОТЫ. Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на:

- 5-ой научно-практической конференции «Перспективные направления научных исследований молодых ученых, специалистов Урала и Сибири», Троицк, 2001.

- международной научно-практической и методической конференции «Актуальные проблемы ветеринарной медицины, животноводства на Южном Урале на рубеже веков», Троицк, 2005.

- 13 Международном ветеринарном конгрессе по ветеринарной медицине мелких домашних животных, Москва, 2005.

ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ. По теме диссертации опубликовано 7 научных статей, в которых изложено основное содержание работы.

ОБЪЕМ И СТРУКТУРА ДИССЕРТАЦИИ Диссертация изложена на 125 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследований, 5 глав собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, списка литературы. Работа проиллюстрирована 12 таблицами и 16 рисунками. Список литературы включает 260 источника, в том числе 112 зарубежных авторов.

Диссертационная работа выполнена по плану, НИР УГАВМ (№ государственной регистрации 01.200.120201.).

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

С целью изучения экспериментальных и биохимических аспектов в ходе дистракционного остеогенеза при удлинении голени собак выполнено две серии экспериментов на 14 беспородных собаках в возрасте от 1-3 лет с массой тела 25-35 кг. У опытных животных изучали эволюцию дистракционного регенерата, сопутствующую динамику остеотропных гормонов и циклических нуклеотидов, особенности иммунной реакции организма.

Всех животных, использованных в экспериментальной работе, содержали в одинаковых условиях и на одном рационе.

В первой серии эксперимента у опытных животных ($n=7$) после экспериментальной остеотомии большеберцовой кости в условиях наложения аппарата внешней фиксации (рис.1 а; б) на 7-е сутки после операции начинали удлинение голени в режиме 1 мм в день до получения диастаза 30 мм в течение 30 суток (рис. 1 в). Удлинение проводили с помощью разработанного Г.А. Илизаровым с соавт. (1986) автоматизированного компрессионно-дистракционного аппарата с нитриновым приводом. Суточное удлинение на 1 мм производилось за 4 этапа. При этом величина одномоментного разведения отломков равнялась 0,025 мм. После дистракции выполняли одномоментную компрессию дистракционного

регенерата на высоту прослойки с измерением компрессирующих усилий.

В ходе эксперимента за животными осуществляли клиническое наблюдение и рентгенологический контроль. Рентгенографию голени проводили в день операции, через каждые 7 дней distraction, фиксации, а также после выполнения компрессии и через месяц после снятия аппарата.

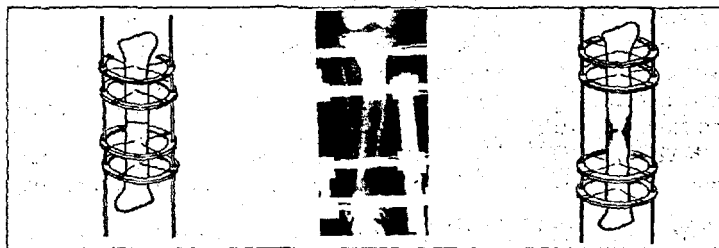


Рис.1. Схема опыта: а)- остеотомия кости; б)- фоторентгенограмма остеотомии после операции; в) distraction.

От опытных животных брали кровь из интактной конечности, в плазме крови опытных животных до операции, а также в дни рентгенологического контроля определяли концентрацию остеотропных гормонов, циклических нуклеотидов, иммунологические и гематологические показатели, миелограмму костного мозга.

Во второй серии эксперимента изучали ускоренный темп distraction при замещении костного дефекта. В данной группе ($n=7$) через 7 суток после операции (рис. 1 в) начинали удлинение голени в режиме 2,0мм в день до получения диастаза 30 мм за 15 суток. Суточное удлинение на 2,0 мм производилось за 90 подкруток. При этом величина одномоментного разведения отломков равнялась 0,017 мм. После завершения distraction также выполнялась одномоментная компрессия и фиксации в течение 40 суток, после этого аппарат внешней фиксации снимали. Активность остеогенеза оценивали, используя клинико-рентгенологические методы исследований.

В работе были использованы следующие методы исследований:

Клинический метод. Клиническое наблюдение заключалось в оценке общего состояния животного, аппетита, состояния послеоперационных ран, степени нарастания или уменьшения посттравматического отёка и опороспособности оперированной конечности, состояния мягких тканей вокруг спиц.

Рентгенологический метод. Для выполнения рентгенограмм использован стационарный рентген-аппарат «Рентген 30» в режиме 48 кV, 0,4с, силой тока 60 мА. Патология находилась в центре кассеты, центрация 1мм. Рентгенограммы

выполняли в двух проекциях (прямой и боковой). Однако нам не всегда удавалось получить наглядные данные при выполнении снимков в строго сагиттальной плоскости, поэтому в некоторых случаях рентгенографию осуществляли в косо-сагиттальной проекции, что позволяло достичь большей информативности и наглядности рентгенограмм. Рентгенографию в косо-сагиттальной плоскости проводили преимущественно в момент сопоставления костных отломков после остеотомии и в начальном периоде distraction.

Рентгенологические исследования проводили до, во время и после операции, перед началом distraction, на 3-й, 5-й, 7-й, 14-й, 21-ый, 28-ой, 30-й дни distraction, а также в 7-й, 14-й, 21-й, 30-й, 45-й и 60-й дни фиксации, после снятия аппарата на 30-ые и 90-е сутки. В отдаленном периоде рентгенологический контроль осуществляли через 30, 90 дней после снятия аппарата.

Исследование периферической крови и пунктатов костного мозга. При оценке состава периферической крови собак определяли количество лейкоцитов в счётной камере Горяева, а подсчёт лейкоцитарной формулы в мазках крови, окрашенных по Романовскому-Гимза к 100 лейкоцитам.

Для пункции костного мозга использовали проксимальный эпиметафиз большеберцовой кости оперированной конечности и проксимальную костную часть distractionного регенерата. Забор костного мозга осуществляли иглой Кассирского после окончания distraction (30-е сутки distraction) и на 45-е сутки периода фиксации.

Костномозговые мазки и мазки-отпечатки окрашивали по Паппенгейму и производили подсчёт парциальных (на 200 клеток) эритроблестрограмм. Для подсчёта развёрнутых цитомиелограмм клетки группировали на три основные популяции: эритроидную, лейкоцитарную и стромальную.

Лабораторные методы исследования. Для выполнения лабораторных исследований использовали плазму и сыворотку крови собак. Кровь для анализа брали пункцией вен конечности контрлатеральной удлиняемой, утром, до кормления - до операции, через 7 дней после операции, на 7-е, 14-е, 21-е и 30-е сутки distraction, на 7-е, 14-е, 21-е, 30-е, 45-е, 60-е сутки фиксации и на 30-е и 90-е сутки после снятия аппарата.

Остеотропные гормоны определяли радиоиммунологическим методом (РИА). При определении тиреокальцитонина использовали набор специальных реактивов (китов) «РИА-ТИРЕОКАЛЬЦИТОНИН-КТ-125-І», паратирин - «РИА - ПАРАТИРИН-ПТ-125-І», соматотропина - «РИА - СОМАТОТРОПИН-СТГ-125-І». Определение содержания циклических нуклеотидов проводили радиоконкурентным методом с помощью наборов реактивов фирмы «Nenparol» (Чехия).

Активность лизоцима сыворотки крови определяли по избирательной лизирующей активности лизоцима в отношении чувствительной культуры *Micrococcus lysodereticus*, бактерицидную активность фотокolorиметрическим методом по О.В. Смирновой, при определении количества Т- и В-лимфоцитов использовали метод M. Jondal et al.

Полученные данные статистически обработаны на персональном компьютере методом вариационной статистики, применяемой для малых выборок, с принятием вероятности (Р), равной 0,05; 0,01; 0,001. Достоверность различий между группами наблюдений оценивали с помощью критерия Т (парный критерий Вилконсона).

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Клинико-рентгенологическая характеристика. При клиническом исследовании методами осмотра и пальпации области повреждения выявляли следующие признаки: боль, хромоту, подвижность кости вне сустава, костную крепитацию. В результате исследований установлено, что в первые 6-12 часов после операции у всех животных отмечали снижение общей температуры тела на 0,5-1,2°C, замедление пульса, дыхания. На следующие сутки животные полностью выходили из наркоза, вставали, принимали пищу. Большинство собак в первые дни после операции щадили поврежденную конечность, а некоторые приступали на неё (рис. 2 а). Операционные раны у всех собак зажили первичным натяжением.

Из местных клинических признаков, в области повреждения, в первые, 20-30 минут после насильственного перелома наблюдали умеренно выраженный травматический отёк, который через 24-48 часов заметно увеличивался, приобретая разлитой характер (воспалительный отёк), распространяясь на дистальную часть поврежденной конечности. Поэтому отмечался отёк голени, а у части животных и стопы, максимум, которого отмечался к 3-5-м суткам после операции и исчезал к 10-15-м. Воспаление мягких тканей вокруг спиц одного из колец наблюдалось у 4 животных.

Начиная с 3-5-х суток после операции, почти все животные опирались на оперированную конечность. У них, начиная, с 5-х суток после травмы, в зоне перелома клинически устанавливали выраженное пролиферативное воспаление, а к 7-му дню — плотные разрастания, характеризующие формирование соединительнотканной мозоли.

Рентгенологически отмечали, что после операции полная репозиция отломков была достигнута у 5-ти из 14 животных (рис. 1 б). У 9 собак имелись различного вида смещения: на половину или полную толщину кортикального слоя, т.е. не более 1 мм.

Первые рентгенологические признаки репаративной регенерации у животных отмечаются на 7-е сутки после операции в виде периостальной и эндоостальной реакции. Толщина периостальных наслоений на поверхности кортикальной пластинки отломков не одинаковая и составляет 0,1-1,5 мм. Сращение содержимого костномозговых полостей к этому сроку отсутствует, а периостальные наслоения, не достигают линии опилов.

К 14-м суткам distraction (рис.2 б) диастаз заполнялся distractionным

регенератом, состоявшим из двух костных частей, разделенных посередине мягкой тканой прослойкой. Тени костных частей регенератов увеличивались по высоте, нарастала плотность, прослеживалась продольная ориентация трабекул костных структур.

К 21-м суткам периода distraction (рис. 2 в) у животных опытной группы мелкоячеистая структура новообразованной костной ткани у концов отломков постепенно, по направлению к середине диастаза, переходила в продольно ориентированные костные трабекулы с уменьшением их плотности. Прослеживалась поперечная зигзагообразная полоса просветления. Местами костные трабекулы противостоящих костных частей регенератов сливались между собой.

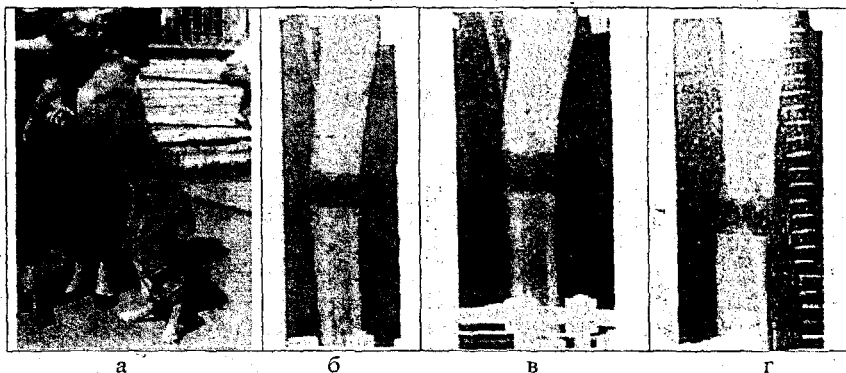


Рис. 2. а) на следующие сутки после экспериментальной остеотомии, б) фоторентгенограмма на 14 сутки distraction; в) фоторентгенограмма на 21-е сутки distraction; г) фоторентгенограмма на 30-е сутки distraction.

К концу периода distraction (30-е сутки) (рис. 2 г; 3 а) диастаз протяженностью $29,9 \pm 0,4$ мм был заполнен тенью distractionного регенерата продольно исчерченной структуры, имеющего зональное строение. Поперечник формирующегося регенерата был равен поперечнику концов прилежащих костных фрагментов. Высота проксимального костного отдела достигала 10,4-17,7 мм, дистального — 10,6 — 15,8 мм. Его костные отделы, имеющие продольно-исчерченную структуру, разделяла невысокая «зона роста». Тени периостальных наслоений на костных фрагментах определялись в большинстве случаев и были более выражены с медиальной и задней поверхности кости.

Сразу же по завершению distraction проводили одномоментную компрессию distractionного регенерата на высоту прослойки с измерением вначале

дистракционных, которые составляли $31,4 \pm 6,6$ кгс, а затем компрессирующих усилий, которые были в средних пределах $12,3 \pm 1,1$ кгс. После компрессии диастаз в среднем уменьшался на $5,0 \pm 1,0$ мм (потеря высоты диастаза колебалась от 1 до 9 мм) его высота в среднем равнялась $28,4 \pm 0,5$ мм (25-32 мм).

Изучение по рентгенограммам области прослойки регенерата после её компрессии (рис.3.б) показало, что дистракционная прослойка сохранялась в том или ином объёме. Это зависело от наличия трабекулярных теней, которые перекрывались или внедрялись в неё к концу периода дистракции. Эти трабекулярные структуры при выполнении компрессии соприкасались между собой и, имея достаточно высокую минерализацию, не подвергались разрушению под воздействием компрессионных усилий, которых было достаточно для сминания мягкотканного компонента соединительно-тканной прослойки.

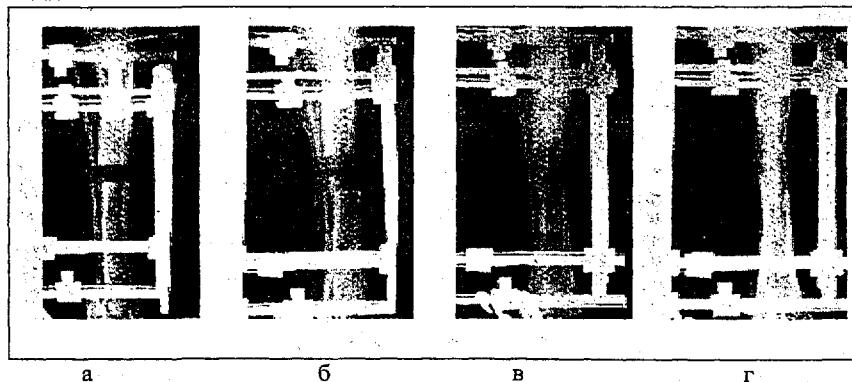


Рис.3. Костеобразование в условиях одномоментной компрессии дистракционного регенерата: а) – дистракция 30 дней, б) – компрессия регенерата (прослойки), в) – фиксация 21 день, был снят аппарат, г) – без аппарата 30 дней.

В период фиксации у большинства животных наблюдалась консолидация регенерата (рис.3.в). Регенерат, заполнявший диастаз, не имел зонального строения, в области компрессирующей прослойки отмечалось чередование участков уплотнения и просветления. Структура регенерата у его оснований была гомогенной, в центральной части – продольно исчерченной. К 60-м суткам фиксации регенерат претерпевал более заметную органотипическую перестройку. В нём определялась гомогенная структура за счет нормирования костномозговой полости на всём протяжении. Толщина новообразованных корковых пластинок была на 0,5-1,0 мм меньше материнских корковых пластинок, и несколько ниже была их плотность.

Через месяц после снятия аппарата регенерат имел бочкообразную форму и, в

основном, сохранял продольно исчерченную структуру (рис.3.г). В центре, в области бывшей прослойки, тень была более плотная, с участками просветления, подчеркивающими границу слияния костных отделов регенератов. Новообразованные корковые пластинки по толщине приближались к корковым пластинкам других участков удлинненной кости. При этом плотность их тени была неоднородной: в месте компрессии тень корковой пластинки была менее интенсивной.

В второй серии эксперимента репаративная регенерация также происходила активно, а для получения диастаза в 30 мм в этой серии потребовалось меньше времени – 15 суток.

Клиническое наблюдение за животными этой серии опытов показало о том, что собаки хорошо переносили операцию. На 2-е сутки после операции свободно перемещались в вольере, слегка нагружая конечность, и полностью при принудительной нагрузке.

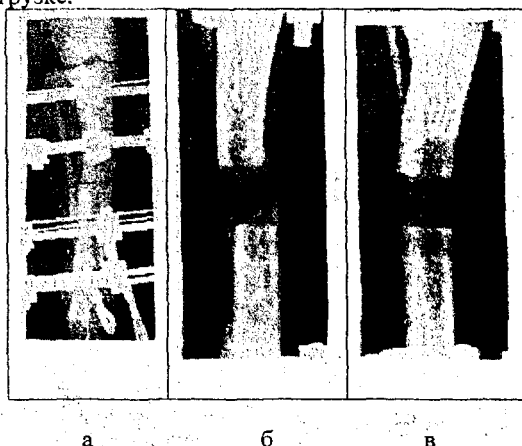


Рис. 4. Рентгенологическая картина костеобразования в ходе distraction (15 суток): а) – после операции; б) - 7-е сутки distraction; в) - 15-е сутки distraction

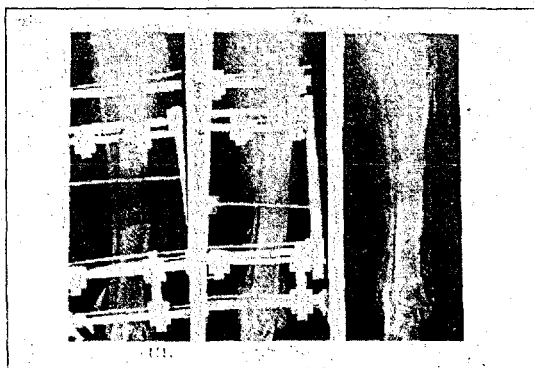
Посттравматический отек значительно уменьшался к 4-5-му дню после операции. Живление костных ран протекало без осложнений первичным натяжением.

Через 7 дней distraction в диастазе, у концов отломков, появлялись нежные, облаковидные тени регенерата (рис.4б). Эндоостальное проявление костеобразования выражалось в уплотнении костномозговой полости концов отломков. Протяженность уплотнения в проксимальном отломке достигала 7-10 мм, в дистальном 5-7 мм.

К 15-м суткам distraction костные части регенерата сливались (рис.4 в.) и только на отдельных участках сохранялись узкие полоски просветления (рис.5 а). Через месяц фиксации в этой группе «зона роста» регенерата была практически полностью замещена костной тканью (рис.5 б), с 2-4-х сторон регенерата (рентгенография в 2-х проекциях) определялась непрерывная кортикальная пластинка, у оснований регенерата формировалась костномозговая полость. К концу периода фиксации зона просветления полностью замещалась костной тканью с однородной структурой. После снятия аппарата (рис.5 в.) отмечалась дальнейшая перестройка регенерата в зрелую костную ткань с формированием корковой пластинки и расположением трабекул по силовым линиям кости.

Использование дробной distraction с суточным режимом 2,0 мм позволило сократить в период фиксации сроки перестройки регенерата, сократив его с 60 суток до 40. Репаративная регенерация сопровождалась формированием в регенерате мелкопетлистой сети новых трабекул.

Таким образом, в условиях более быстрых темпов distraction репаративная регенерация кости протекает более активно, а это, в свою очередь, позволяет осуществить удлинение конечности с более быстрыми темпами distraction, сокращая при этом весь процесс удлинения конечности.



а б в

Рис. 5. Перестройка distractionного регенерата (срок distraction 15 суток): а) - 15-е сутки distraction; б) - период фиксации 30-е сутки; в) - аппарат снят

Роль кровяной системы в механизмах костеобразования. Система крови участвует в неспецифических и специфических адаптивных реакциях, определяющих реактивность организма, сущность которой состоит в сохранении клеточного гомеостаза (Г. Селье, 1972; П.Д. Горизонтов с соавт., 1980; М.А. Дерхо с соавт., 2004).

В данном разделе работы нами представлены данные о наличии связи между значениями миелограммы костного мозга и уровнем лейкоцитов в крови в ходе distractionного остеогенеза, в условиях фиксации аппаратом внешней фиксации (табл. 1).

Таблица 1. Лейкограмма (%), (n=7, $\bar{X} \pm s_x$), $P < 0,05$

Клетки крови	Контроль	Послеоп. период (3-е сут)	Период distraction (30-е сут)	Период фиксации (45-е сут)
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	$8,79 \pm 0,23$	$12,43 \pm 0,15^*$	$10,56 \pm 0,18^*$	$9,43 \pm 0,15$
Эозинофилы, %	$1,14 \pm 0,15$	$0,31 \pm 0,11^*$	$1,38 \pm 0,12$	$1,25 \pm 0,09$
Нейтрофилы, %	$63,2 \pm 0,51$	$80,40 \pm 2,62^*$	$77,29 \pm 0,37^*$	$69,56 \pm 1,31^*$
Лимфоциты, %	$35,31 \pm 0,91$	$18,01 \pm 0,85^*$	$20,7 \pm 1,12$	$28,5 \pm 0,95$
Моноциты, %	$0,35 \pm 0,02$	$1,28 \pm 0,14^*$	$0,63 \pm 0,08^*$	$0,69 \pm 0,07^*$

Нами установлено, что послеоперационный период (табл. 1) сопровождается увеличением общего количества лейкоцитов, в лейкограмме которых резко возрастает уровень гранулоцитов за счёт нейтрофилов и уменьшается агранулоцитов за счёт лимфоцитов. К концу периода distraction сохраняется значительный подъём моноцитов, нейтрофилов, который удерживается и в период фиксации (60-е сут). Таким образом, distractionный остеогенез, характеризуется фазовыми количественными изменениями содержания лейкоцитов и лейкоформулы.

При анализе данных миелограмм костного мозга собак из distractionного регенерата, мы установили, что в период distraction увеличивается общее количество лимфоидных клеток, намечается тенденция к уменьшению общего числа эритроидных клеток в основном за счёт базофильных и полихроматофильных нормоцитов. Все это ведет к достоверному возрастанию значения лейкоцитарно - эритробластического соотношения (ЛЭС). Достоверно возрастает и общее количество клеток гранулоцитарного ряда, за счёт которых, в периферической крови, поддерживается высокий уровень нейтрофилов. Появляется тенденция к увеличению числа моноцитов-макрофагов. В период фиксации (45-е сут) в миелограмме костного мозга достоверно высокая концентрация общего количества клеток гранулоцитарного ряда, которой в периферической крови соответствует высокое содержание нейтрофилов и эозинофилов; резко возрастает общее количество лимфоидных клеток, но ему в лейкограмме отвечает физиологическое значение лимфоцитов. Следует отметить, что значительно увеличивается содержание моноцитов-макрофагов.

Таким образом, костномозговое кроветворение существенно изменяет свою активность, повышая выработку миелоидных и уменьшая продукцию эритроидных клеток последовательно в периоды регенерации кости при удлинении, тем самым, обеспечивая, повышенную потребность организма в лейкоцитах. При этом максимум увеличения количества моноцитов-макрофагов в костном мозге

соответствует их наиболее высокому содержанию в периферической крови, т.е. увеличение число моноцитов в крови при регенерации кости имеет истинный характер. Аналогичная картина наблюдается и со стороны нейтрофилов, лимфоцитов и эозинофилов.

Нейро-гормональная регуляция остеогенеза. В механизме костеобразования ведущую роль играют гормоны, регулирующие обмен кальция, фосфатов, цитратов и имеющих кость в качестве одной из мишеней. Основными среди них являются - паратирин (ПТ) и кальцитонин (КТ) (Панков Е.Я. с соавт., 1994; Десятни-ченко К.С., 1997).

В данном разделе нашей работе. представлены данные, отражающие особенности регуляции дистракционного остеогенеза. Мы установили, что после оперативного вмешательства и на 7-е сутки после неё достоверно возрастает концентрация остеотропных гормонов (рис.6 а), при этом уровень ПТ увеличивается более чем в 6 раз, а КТ только в 1,38. Это свидетельствует об активации функциональной активности соответствующих эндокринных желез и преобладании в костной ткани процессов костной резорбции на фоне преобладающего влияния паратирин (ПТ-зависимая фаза).

Период дистракции характеризуется сохранением высокой концентрации ПТ, т.е. она тоже паратиринзависимая (ПТ-зависимая).

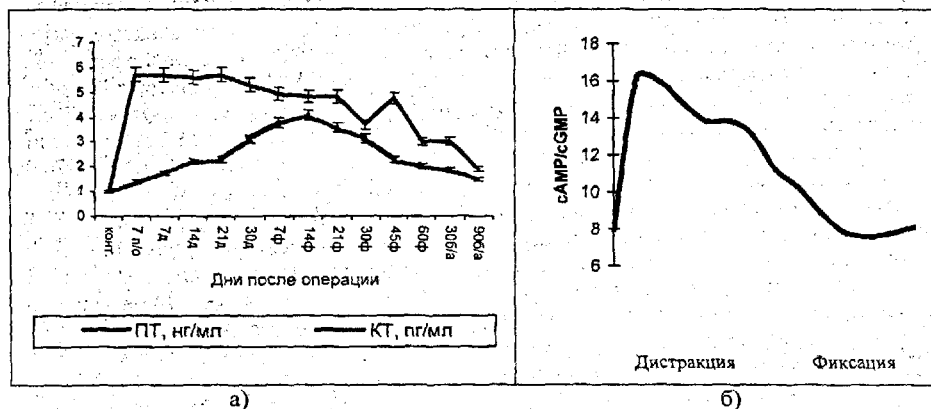


Рис 6. а)- динамика остеотропных гормонов: п/о – послеоперационный период; д – период дистракции; ф – период фиксации; б/а – период после снятия аппарата; б) - активность клеточной пролиферации при дистракционно-компрессионном остеогенезе

Окончание дистракции и весь период фиксации дистракционного регенерата характеризуется высоким уровнем в плазме крови КТ (рис. 6 а), что свидетельствует

об активации биосинтетической активности остеобластов и сопряженных с этим процессов биологической минерализации новообразованной ткани (КТ-зависимая).

После снятия аппарата внешней фиксации нами отмечена нормализация содержания остеотропных гормонов в плазме крови, хотя они не достигают дооперационных величин, что свидетельствует о продолжающейся перестройке дистракционного регенерата в зрелую костную ткань.

Внутриклеточным посредником, опосредующим биологическое действие остеотропных гормонов, являются циклические нуклеотиды (сАМР, сGMP).

Послеоперационный период характеризуется (рис. 6 б) повышением концентрации сАМР в результате напряжения адренергических механизмов, что является одной из первых ответных реакций организма собак на травму. При этом ингибируется деление клеток, замедляется прохождение их через фазу митоза (Фёдоров Н.А., 1979), что напрямую связано с возрастанием концентрации ПТ. В фазу фиксации дистракционного регенерата в процесс остеогенеза подключаются холинэргические механизмы, повышающие устойчивость организма к травме. Они инициируют пролиферацию, а также цепь реакций, ведущих к митозу, на фоне регулирующего влияния КТ.

Таким образом, мы установили, что активность и напряженность нейро-эндокринной системы зависит от стадий регенераторного процесса.

Реакция иммунной системы. Иммунитет обеспечивается комплексом клеточных и гуморальных, специфических и неспецифических защитных реакций, благодаря которым поддерживается постоянство внутренней среды организма. Поэтому нами изучен характер изменений показателей клеточного и гуморального иммунитета собак под действием внешнего раздражителя – экспериментального перелома, ведущего к появлению молекул и клеток в крови, обладающих антигенной чужеродностью для собственного организма опытных животных. Результаты исследований представлены в табл. 2 и 3.

Таблица 2. Иммунный статус собак после экспериментальной травмы (n=7), $\bar{X} \pm s_x$, * - $P < 0,05$

Показатели	Контроль	Дни после травмы, сут.	
		3	7
Т-лимфоциты, %	54,0 $\pm$ 0,24	58,6 $\pm$ 0,40*	62,1 $\pm$ 0,54*
Т-лимфоциты, тыс	1,8 $\pm$ 0,24	1,9 $\pm$ 0,40	2,5 $\pm$ 0,64
В-лимфоциты, %	18,0 $\pm$ 1,22	14,0 $\pm$ 0,68	20,0 $\pm$ 1,22
В-лимфоциты, тыс	0,6 $\pm$ 0,06	0,5 $\pm$ 0,06	0,8 $\pm$ 0,09
Бактериальная активность, %	89,12 $\pm$ 2,12	72,33 $\pm$ 3,13	65,03 $\pm$ 2,54
Лизоцимная активность, %	27,30 $\pm$ 1,33	20,14 $\pm$ 1,26	14,20 $\pm$ 1,26

Изменение количества Т-лимфоцитов на третьи сутки после

экспериментального перелома, а В-лимфоцитов (табл. 2) на 7-е свидетельствует о том, что стимуляция синтеза иммуноглобулинов в ходе остеогенеза происходит в строго хронологическом порядке, который определяется классом иммуноглобулинов. Роль стимулирующего фактора выполняют продукты деградации органического остова костной ткани и образующиеся при этом токсические вещества, высвобождающиеся из места травмы в кровь.

Таблица 3. Иммунный статус собак в ходе distraction (n=7), $\bar{X} \pm s_x$, * - $P < 0,05$

Показатели	Контроль	Дни distraction, сут.	
		14	30
Т-лимфоциты, %	54,0 $\pm$ 0,24	55,0 $\pm$ 2,56	53,1 $\pm$ 3,20
Т-лимфоциты, тыс	1,8 $\pm$ 0,24	1,7 $\pm$ 0,36	1,9 $\pm$ 0,28
В-лимфоциты, %	18,0 $\pm$ 1,22	24,0 $\pm$ 2,14*	19,0 $\pm$ 0,88
В-лимфоциты, тыс	0,6 $\pm$ 0,06	0,9 $\pm$ 0,14*	0,6 $\pm$ 0,12
Бактерицидная активность, %	89,12 $\pm$ 2,12	61,30 $\pm$ 2,67*	76,00 $\pm$ 3,25*
Лизоцимная активность, %	27,30 $\pm$ 1,33	13,04 $\pm$ 1,45*	19,23 $\pm$ 1,76*

Экспериментальная травма сопровождается достоверным уменьшением лизоцимной и бактерицидной активности, что свидетельствует об угнетении процесса фагоцитоза. Период distraction (табл. 3) характеризуется нормализацией уровня Т-лимфоцитов, но достоверным увеличением количества В-лимфоцитов на 14-е сутки удлинения. Ранее нами установлено, что distraction является ПТ-зависимой фазой и сопровождается процессами растворения кости в месте остеотомии, прилегающих к ней участках, а также и в костной ткани скелета животных. Это и вызывает дополнительный синтез иммуноглобулинов класса IgM, т.к. они способны к опсонизации. Значения, отражающие степень бактерицидной и лизоцимной активности постепенно нормализуются.

Таким образом, динамика показателей естественной резистентности наглядно свидетельствует об изменениях функционального состояния иммунной системы организма животных при травме.

4. ВЫВОДЫ:

1. Автоматизированный компрессионно-distractionный аппарат с нитриновым приводом позволяет выполнять дозированный distractionно-компрессионного остеосинтез с целью удлинения трубчатых костей после травмы.
2. Способ distraction кости с последующим одномоментным сближением частей регенерата и дозированной компрессией стимулирует динамику костеобразования.
3. Интенсивность периода distraction и регенерации зависит от скорости

дистракции: при скорости удлинения 1мм в сутки он составил 30 суток; при скорости удлинения 2,0 мм в сутки – 15 дней.

4. Регуляция дистракционно-компрессионного остеогенеза протекает в две фазы: 1-ая – паратиринзависимая, она продолжается весь послеоперационный период и период дистракции; 2-ая – кальцитонинзависимая, занимает период фиксации и период после снятия аппарата внешней фиксации.

5. Паратиринзависимая фаза регулируется паратиринном и умеренно соматотропином, характеризуется лимфопенией и нейтрофильным гранулоцитозом, в миелограмме костного мозга повышением лейкоцитарно-эритробластического соотношения за счёт угнетения эритропоэза, раздражением холинэргических рецепторов нервной системы, ведущего к возрастанию соотношения cAMP/cGMP, усилением синтеза иммуноглобулинов и угнетением лизоцимной и бактерицидной активности.

6. Кальцитонинзависимая фаза регулируется кальцитонином и умеренно гормоном роста, характеризуется моноцитарным агранулоцитозом в крови, в миелограмме костного мозга возрастанием общего количество клеток гранулоцитарного ряда, общего количество лимфоидных клеток, общего количество клеток белого ряда при снижении клеток эритроидного ряда и высоким значение ЛЭС, раздражением адренэргических рецепторов нервной системы, ведущего к уменьшению соотношения cAMP/cGMP, нормализацией показателей специфического и неспецифического иммунитета.

7. Уровень моноцитов в крови и костном мозге отражает интенсивность процессов остеокластической резорбции в костной ткани. Он возрастает на 3-и сутки в послеоперационный период, в период дистракции при формировании костномозговых полостей, в период фиксации обусловлен остеокластической резорбцией новообразованной кости во время формирования костномозгового канала.

5. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Результаты исследования могут быть использованы при остеосинтезе трубчатых костей у животных, сопровождающихся укорочением и деформацией.

2. Теоретическое обоснование остеогенеза при ЧКДО существенно дополнит курс лекций по травмам костей у животных в учебном процессе на кафедрах ветеринарной хирургии и биохимии ветеринарных вузов.

3. Данные лабораторных исследований, полученные в ходе изучения дистракционно-компрессионного остеогенеза могут быть использованы в дальнейших научных исследованиях.

4. Рентгенологическая картина и биохимическая модель нейро-гуморальной регуляции в ходе дистракционно-компрессионного остеогенеза может использоваться для оценки эффективности лечения травм опорно-двигательного аппарата у собак, а также при разработке методов и способов фармакоррекции.

6. СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Ермошкина, Т.В. Роль моноцитов-макрофагов в дистракционном остеогенезе / Т.В. Ермошкина // Актуальные проблемы ветеринарной медицины: Мат-лы межд. науч.-практ. конф., посвященной 75-летию УГАВМ – 23-24 марта 2005 г.: Сб. науч. тр. – Троицк: УГАВМ, 2005. – С.51-53.
2. Дерхо, М.А. Некоторые аспекты нейро-гормональной регуляции дистракционного остеогенеза у собак / М.А. Дерхо, С.Ю. Концевая, Т.В. Ермошкина // Актуальные проблемы биологии и ветеринарной медицины мелких домашних животных: матер. Междун. науч.-практ. конф., посвященной 75-летию УГАВМ -19-20 мая 2005 г.: Сб. науч. тр. – Троицк: УГАВМ, 2005. – С. 302-306.
3. Дерхо, М.А. Особенности секреции остеотропных гормонов и циклических нуклеотидов в ходе удлинения голени после дистракционно-компрессионного остеосинтеза / М.А. Дерхо, С.Ю. Концевая, Т.В. Ермошкина // Ветеринарная клиника. – 2005. – № 4. – С. 14-18.
4. Ермошкина, Т.В. Участие кроветворной системы в механизмах костеобразования при удлинении большеберцовой кости / Т.В. Ермошкина, М.А. Дерхо // Актуальные проблемы ветеринарной медицины: Мат-лы межд. науч.-практ. конф., посвященной 75-летию УГАВМ – 23-24 марта 2005 г.: Сб. науч. тр. – Троицк: УГАВМ, 2005. – С.53-56.
5. Дерхо, М.А. Рентгенологическая динамика костеобразования при последовательном дистракционно-компрессионном остеосинтезе / М.А. Дерхо, С.Ю. Концевая, Т.В. Ермошкина // Мат-лы XIII Московского межд. Вет. конгресса. – М., 2005. – С. 123-124.
6. Дерхо, М.А. Некоторые особенности гормональной регуляции дистракционного остеогенеза трубчатых костей / М.А. Дерхо, С.Ю. Концевая, Т.В. Ермошкина // Мат-лы XIII Московского межд. Вет. конгресса. – М., 2005. – С. 124-125.
7. Дерхо, М.А. Особенности углеводного и липидного обмена в ходе удлинения голени после дистракционно-компрессионного остеосинтеза / / М.А. Дерхо, С.Ю. Концевая, Т.В. Ермошкина // Ветеринарная клиника. – 2005. - № 5. – С. 11-15.

Отпечатано в ООО «Печатный двор».
г. Казань, ул. Журналистов, 1/16, оф.207
Тел: 272-74-59, 541-76-41, 541-76-51.
Лицензия ПД №7-0215 от 01.11.2001г.
Выдана Поволжским межрегиональным
Территориальным управлением МПТР РФ.
Подписано в печать 27.06.2006г. Усл. п.л.1,0.
Заказ № К-4923. Тираж 100 экз. Формат 60х84 1/16
Бумага офсетная. Печать – ризография.

