

На правах рукописи

Ротанов Денис Александрович

**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
ЭРИТРОПОЭЗА У СОБАК В ОСТРЫЙ
ПОСТТРАВМАТИЧЕСКИЙ ПЕРИОД**

16.00.02 – Патология, онкология и морфология животных

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



003060654

МОСКВА 2007

Работа выполнена на кафедре незаразных болезней ветеринарно-санитарного факультета ГОУ ВПО «Московского государственного университета прикладной биотехнологии» (МГУПБ)

Научный руководитель: **Ватников Юрий Анатольевич**,
доктор ветеринарных наук (МГУПБ)

Официальные
оппоненты: – **Брагин Геннадий Иванович**,
доктор ветеринарных наук, профессор (МГУПБ)
– **Слесаренко Наталья Анатольевна**,
заслуженный деятель науки РФ,
доктор биологических наук, профессор (МГАВМиБ
им К.И. Скрабина)

Ведущая организация: **ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» (СПГАВМ)**

Защита диссертации состоится 21 июня 2007 г. в 14⁰⁰ часов
на заседании Диссертационного совета Д 212 149 03 в Московском государственном университете прикладной биотехнологии по адресу 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 33.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке МГУПБ

Автореферат разослан 19 мая 2007 г

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор ветеринарных наук



Смирнова И.Р.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы Морфофункциональные изменения при переломах длинных трубчатых костей у животных, посттравматические и постоперационные осложнения проявляющиеся сложными системными и локальными патологическими процессами, снижение полноценного использования животных в хозяйственных и служебных целях, социальная и хозяйственная необходимость в сохранении работоспособности травмированных собак требуют целенаправленного и детального исследования структуры и функции органов и тканей острого посттравматического состояния, заставляют уделять большее внимание всесторонним исследованиям организма и в частности эритропозу, так как создание алгоритмов посттравматической и предоперационной стабилизации являются основой в профилактике смертельных случаев и посттравматических осложнений

По данным Ю А. Ватникова (2004), количество травм в 2000-2003 гг составило от 18 до 26 % от всей хирургической патологии. Смертность за этот же период составила 12-24 % от общего показателя гибели собак Разнообразие травм, их локализация, степень тяжести, частота осложнений и смертность вызывают необходимость углубленного изучения данной проблемы (Ватников Ю А , 2003; Сотников С В , Герке В.С., 2003, Тимофеев С В., Солдатов П.А , 2004, Зиадетдинова Г А , 2005, Веденин В Н., 2005, Анников В В., Слесаренко Н А , 2006; Ватников Ю А , Бажибина Е Б , 2007; Tomlin J L , Pead M J , 2001; Clements D.N., Carmichael S., 2003, Bennett D , Gibbs C , 2004)

Статистические показатели, анализ научной литературы, собственные наблюдения показывают, что решение задач посттравматической стабилизации животных и создания условий контролируемой коррекции основных систем организма на сегодняшний день отсутствует. Нет научно обоснованных критериев, дающих полное представление о возможности проведения оперативных вмешательств на трубчатых костях При этом попытка углубленного изучения острого посттравматического состояния с позиций морфофункциональных особенностей эритропоза в острый посттравматический период в сравнительном аспекте спонтанной и операционной травм представляется своевременной и актуальной

Цель исследования Обосновать морфофункциональные изменения эритропоза в сравнительном аспекте острой спонтанной и операционной травм конечностей у собак Разработать пути предоперационной коррекции

Задачи исследования.

- 1 Провести мониторинг осложнений при травмах конечностей у собак
- 2 Оценить состояние эритропоза в острый посттравматический и постоперационный периоды в условиях эксперимента
3. Провести сравнительный морфофункциональный анализ эритропоза при костной спонтанной и операционной травмах конечностей
4. Охарактеризовать структурные изменения эритроцитов, костного мозга и костной ткани при переломах в острый посттравматический период
5. Представить научно обоснованный прогноз оперативных вмешательств и предложить пути предоперационной коррекции

Научная новизна Впервые представлена морфофункциональная характеристика эритроцитов, эритробластического ростка костного мозга в сравнительном аспекте острой спонтанной и операционной травмы конечностей у собак. Изучены структурные изменения эритроцитов, гемопозитического региона костного мозга и костной ткани при острой костной травме Впервые на основе анализа показателей эритропоза при спонтанных травмах научно обоснован прогноз оперативных вмешательств. В результате проведенных исследований установлено, что оперативное вмешательство в течение 48 часов после травмы противопоказано, так как операция сопровождается более тяжелыми изменениями со стороны красной крови по сравнению с физиологическими данными и показателями, сопровождающими травматический перелом конечности

Применение отечественного иммунокорректора «фоспренил» в комплексе базовой терапии посттравматического состояния у собак, оказывает корректирующее действие на морфофункциональное состояние эритропоза

Практическая ценность работы. Опубликованы и применяются в учебном процессе методические рекомендации «Показатели факторов естественной резистентности при костной травме у животных» для студентов специальности 110501 - Ветеринарно-санитарная экспертиза, 110502 – Ветеринария

Результаты работы используются в учебном процессе МГУПБ и внедрены в клиниках «Центр», «Время Вет», «Эскулап», «ЗооАкадемия», СББЖ СЗАО, «ЗооДоктор»

Связь исследований с научной программой. Диссертация выполнена в рамках научно-исследовательской работы в соответствии с планом НИР МГУПБ 7-1-04В «Травматизм и посттравматическое восстановление». Код темы по ГРНТИ - 68 41.33; 68 41 47

Апробация результатов. Материалы по результатам диссертации доложены на 5-й международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы ветеринарной медицины и ветеринарно-санитарного контроля сельскохозяйственной продукции (2004), на 13-м международном Московском ветеринарном конгрессе по болезням мелких домашних животных (2005)

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 5 работ.

Положения, выносимые на защиту.

1 Мониторинг спонтанных травм у собак по данным ветеринарных клиник г Москвы

2 Морфофункциональная оценка эритропоза в острый посттравматический период в условиях эксперимента, а также при спонтанной и операционной травме

3. Характеристика морфофункциональной составляющей посттравматической анемии, прогноз оперативных вмешательств на костной ткани и пути системной коррекции острого посттравматического состояния.

Объем и структура диссертации. Диссертация выполнена на 143 стр. машинописного текста. Состоит из введения, обзора научной литературы, собственных исследований, заключения, выводов и списка литературы, включающего 214 источников, из них 130 отечественных и 84 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 14 табл., 23 рис

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалы и методы Работа выполнена на кафедре незаразных болезней ветеринарно-санитарного факультета Московского государственного университета прикладной биотехнологии

Мониторинг травм у собак (n=89) в результате дорожно-транспортных происшествий (ДТП) проводили на основании собственных исследований и данных ветеринарных клиник г Москвы

С целью получения количественных и качественных изменений эритроцитов и эритробластического ростка костного мозга (КМ) при сравнении тяжести индуцированного перелома и оперативных вмешательствах задействованы 18 клинически здоровых белых крыс-самцов гибридных линий в возрасте 2-х месяцев, живой массой 200 г, подобранные по принципу аналогов и содержащиеся в условиях вивария. Лабораторным крысам (n=18) под общей анестезией, после перелома бедренной кости, вводили металлическую спицу (штифт) для сопоставления отломков. Перед операцией, а также на 1, 3, 5-е сутки после проводили исследования КМ и периферической крови. В экспериментальной части исследовано 216 проб крови и 180 препаратов КМ.

Клиническую часть данной работы выполняли на кафедре незаразных болезней МГУПБ, в ветеринарных клиниках и лабораториях г Москвы на 36-ти собаках средних пород, живой массой от 16 до 22-ти кг в возрасте от 18-ти месяцев до 3,5 лет, принадлежащих частным лицам и содержащихся на сухом сбалансированном рационе кормления. Физиологические показатели основаны на литературных данных и собственных исследованиях 8-ми клинически здоровых собак (48 проб крови и 18 – костного мозга). Под наблюдением находились собаки, поступавшие на амбулаторный прием в течение 12 (n=25), 24 (n=8) и 48 (n=3) часов после спонтанной травмы с переломами длинных трубчатых костей (плечо, бедро) в средней трети диафиза. Показатели эритропоза травмированных собак на момент первичного приема выполнены на 6-ти животных из числа находящихся под наблюдением. Всем поступившим животным после ДТП, в течение предоперационного периода оказывали помощь в виде симптоматической, патогенетической, заместительной и антимикробной терапии.

В первой серии опытов было задействовано 16 собак. Животных разделили на 3 группы. В первую группу вошли животные (n=3), у которых период от спонтанной травмы до операции составлял 1-2 суток, вторую группу (n=9) составляли собаки с предоперационным периодом 3-4 суток, третью (n=4) с предоперационным периодом 5-7 суток (всего 384 пробы крови, 92 пробы КМ)

Во второй серии опытов (n=12), на фоне базовой терапии применяли фоспренил - новый отечественный препарат, обладающий широким спектром биологической активности, иммунокорректор вторичных иммунодефицитов и стресса (Данилов Л.Л., Деева А В и соавт., 1999, Ожерелков С В, Сосновская О Ю с соавт., 2003), утвержденный Заместителем руководителя Департамента ветеринарии от 10.07 2003 г. Травмированным собакам на протяжении предоперационного периода вводили фоспренил 1 раз в сутки в дозе 1,0 мл/кг (Пронин

А.В., 2004). Иммунокорректор инъецировали животным, разделенным на 3 подгруппы 1-ая подгруппа получала фоспренил в течение 1–2-х суток (n=4), 2-я подгруппа – на протяжении 3–4 суток (n=5) и 3-я – 5-ти суток (n=3) после чего проводили остеосинтез (288 проб крови). В качестве контроля использовали данные, полученные в 1-й серии опытов на те же сроки исследований

При исследовании структурной и функциональной активности костного мозга и эритроцитов использовали стандартную методику исследования крови в модификации В В Долгова с соавт (2001) Мазки крови, окрашивали по Романовскому–Гимза Микрофотографии, представленные в работе, выполнены цифровой камерой Digital camera C – 40 zoom с микроскопа Olympus BX – 51 Структурный анализ костного мозга и костной ткани проводили по Г А Меркулову (1969) Гистологические срезы (n=12) тканей готовили на микротоме HM-360 фирмы «Micotom» (Германия), окрашивали гематоксилином и эозином Изучение и микрофотосъемку гистологической картины проводили на микроскопе Jenamed-2 (Karl-Zeiss, Германия) Аспирационную биопсию костного мозга (n=16) проводили по Г А Симоняну с соавт. (1995) Интрамедуллярный остеосинтез собак (n=12) осуществляли по W.O Brinker et al (1991) в условиях операционной.

Контроль над состоянием травмированных животных осуществляли по клиническим признакам, принятым в ветеринарии. Полученные данные обработаны методом вариационной статистики по Стьюденту (В Ю Урбах, 1975) с использованием программного обеспечения MS Excel 2003

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Мониторинг травматизма собак по данным ветеринарных клиник г. Москвы. Анализ собственных наблюдений (n=28), исследований историй болезни животных, подвергшихся травматическому воздействию (n=89) и переломам длинных трубчатых костей, а также результатов проведения интрамедуллярного остеосинтеза, выполненного в различные сроки после спонтанной травмы, показывает, что при выполнении операции через 6 ч на 3-х собаках смерть наступила в 100 % случаев Оперативное вмешательство, выполненное через 12 часов на 6-ти животных, в трех случаях (50%) вызвало осложнения в виде острой почечной недостаточности (ОПН) и 3 случая (50 %) смерти в процессе операции Операция через 24 ч на 8-ми собаках в 50 % случаев сопровождалась осложнениями, связанными с нарушением костеобразования (n=2) и ОПН (n=2) В 2-х случаях установлена смерть в течение суток после проведения операции, что составило 25 % При проведении операции через 2-е суток после травмы на 15-ти животных, осложнения отмечены у 6-ти собак (40 %) в виде компенсированной ССН и ОПН (n=4) и несовершенное костообразование (n=2) Смертельный исход в течение 24-х часов отмечен в 2-х случаях. Операции через 3-е суток после травмы на 12-ти животных, сопровождалась осложнениями в 4-х случаях (33 %) Осложнения были связаны с ОПН, в одном случае выявлено гнойное отделяемое из раны. Смерть в первые сутки после операции отмечена в

3-х случаях (25 %). Проведение оперативных вмешательств на 4-е сутки у 19 собак выявил 2 случая (10,5 %) осложнений, связанных с несовершенным костеобразованием, и 2 (10,5 %) смертельных исхода. Остеосинтез на 5-е сутки после травмы у 12-ти животных сопровождался гнойными осложнениями в 2-х случаях (25 %), смертельный исход отмечен у 1-го животного (8,3%)

Таблица 1

Анализ оперативных вмешательств в различные сроки после переломов длинных трубчатых костей

Время после травмы	Количество собак	Осложнений после операции	Количество, %	Смертность после операции	Количество, в%
6 ч	3	-	-	3	100
12 ч	6	3	50	3	50
24 ч	8	4	50	2	25
2 сут	15	6	40	2	13,3
3 сут	12	4	33,3	3	25
4 сут	19	2	10,5	2	10,5
5 сут	12	3	25	1	8,3
7 сут	9	2	22,2	-	-
10 сут	3	1	33,3	-	-

Проведение операции на 7-е сутки у 9-ти собак сопровождалось гнойными осложнениями (n=2) в 22,2 % случаев. Наблюдения за постоперационным периодом у 3-х собак, прооперированных на 10-е сутки, выявили наличие гнойных осложнений в 33,3 % случаев

Таким образом, мониторинг травматизма выявил, что при оперативном вмешательстве в течение 48 ч (n=32) после травмы постоперационные осложнения составляют 40,7 %, гибель животных наступает в 31 % случаев, оперативное вмешательство через 3-4 дня (n=31) вызывает осложнения в 19,3 % случаев, а гибель – в 16,5 %. Операция через 5–7 суток (n=21) сопровождается осложнениями в 23,8 %, а гибель 4,7 % случаев

Исследование травматизма показывает, что спонтанная травма и оперативные вмешательства сопровождаются значительным количеством осложнений и смертельных случаев. Следовательно, поиск стандартных условий для посттравматической и предоперационной стабилизации на основе анализа морфофункциональных составляющих эритропоза в сравнительном аспекте спонтанной и операционной травм является исключительно важным для понимания сущности процессов, протекающих в организме. Изучение динамики клеточного состава костного мозга и периферической крови позволит отразить глубину изменений в организме травмированного животного и прогнозировать течение патологического процесса. В этой связи изучение морфофункциональных аспектов спонтанной и индуцированной травмы имеет важное теоретическое и прикладное значение, так как способствует расширению современных представлений о патогенезе посттравматического состояния животных

Морфофункциональный анализ эритропоза крыс при экспериментальной и операционной травме

Экспериментальным крысам ($n=18$) после перелома бедренной кости для сопоставления отломков, под общей анестезией вводили металлическую спицу (штифт) на 1, 3, 5-е сутки после перелома и проводили исследования костного мозга и периферической крови

Травматическое воздействие на костную ткань экспериментальных крыс вызывает динамические сдвиги в формировании эритробластического ростка заключающиеся в его сужении на уровне эритробластов, базофильных и оксифильных нормобластов, как реакции на повреждение, проявляющиеся снижением пролиферации и дифференцировки клеток в посттравматический период, а также с выбросом юных клеточных форм в периферическую кровь. Расширение эритробластического ростка установлено на уровне полихроматофильных нормобластов, что характеризуется задержанным выходом их в периферическую кровь. Количество эритроцитов ($RBC \times 10^{12}/л$), гемоглобина (HGB, г/дл) и гематокритного числа (HCT, %) резко снижается как после перелома, так и после остеосинтеза. Отмечено снижение показателей, характеризующих объем эритроцитов к их числу, среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH, пг), а также на 100 мл крови (МСНС, г/дл). Морфологический анализ показал, что структура эритроцитов подвержена значительной деформации, снижается число нормоцитов, дискоцитов. Наиболее выраженные изменения установлены на период оперативного вмешательства. Содержание эхиноцитов, стоматоцитов и сфероцитов увеличивается в 1,5–2 раза под воздействием травмы. Увеличивается количество ретикулоцитов, происходит накопление ядерных форм и эритроцитов с тельцами Жолли.

Таким образом, оперативное вмешательство, выполненное на 1-е сутки после травмы, сопровождается более выраженными изменениями со стороны красной крови по сравнению с физиологическими данными (ФП) и показателями, сопровождающими травматический перелом конечности. Остеосинтез, проведенный на 3-и и 5-е сутки, сопровождается схожими изменениями по сравнению с экспериментальной травмой, но количественное выражение динамики эритроцитарной составляющей находится в диапазоне, граничащем с ФП.

Сравнительный морфофункциональный анализ эритропоза у собак при спонтанной и операционной травмах

Анализ показателей эритропоза собак при спонтанной и операционной травме с предоперационной подготовкой 1-2 суток (1-я серия опытов, группа № 1). Исследования проводили на спонтанно травмированных собаках ($n=3$) с переломами длинных трубчатых костей в средней трети диафиза. Кровь исследовали на момент поступления, непосредственно перед операцией, а также в постоперационный период.

Анализ результатов показал, что спонтанная и операционная травма трубчатых костей в ранний посттравматический период вызывает выраженные из-

менения в эритроцитарной составляющей крови и сопровождается снижением количества эритроцитов (RBC), в 2 раза к ФП (табл 2)

Таблица 2

Динамика эритроцитарных показателей собак под воздействием острой спонтанной и операционной травм с предоперационным периодом 1-2 суток

Показатели крови группа № 1	Физиол показат (ФП)		Показатели на момент первичн приема		Показатели через 1-2 суток		Показатели после операции					
	М	m	М	m	М	m	1 сутки		3 сутки		5 сутки	
RBC x10 ¹² /л	5,8	0,6	3,0	0,3	3,1	0,3	1,8	0,02	3,3	0,1	4,0	0,1
HGB, г/дл	14,5	0,6	9,0	1,8	8,5	1,2	5,0	1,0	6,0	0,3	9,9	0,3
HCT, %	39,5	2,7	22,0	2,2	24,0	1,3	16,6	1,6	28,9	1,3	32,0	3,6
MCV, фл	69,4	3,4	72,7	3,7	66,0	3,3	88,2	2,2	85,7	3,1	80,0	4,2
MCH, пг	26,5	1,7	30,0	3,1	25,0	3,7	24,5	4,6	26,5	3,1	27,1	3,1
MCHC, г/дл	34,8	2,2	28,9	3,1	35,4	2,2	26,7	2,5	32,1	3,2	34,0	3,1
RDW, %	12,5	0,7	17,2	2,6	15,5	2,7	15,0	3,7	21,8	2,6	15,2	2,7
СОЭ, мм/ч	3,0	0,06	3,3	0,2	4,0	0,2	6,3	0,3	7,7	0,3	9,7	0,3
ЦП, %	0,75	0,03	0,60	0,07	0,55	0,3	0,83	0,01	0,81	0,02	0,82	0,01
Ретикулоцит	2,0	0,06	6,1	1,1	9,2	1,3	17,1	3,3	22,0	3,4	19,1	3,3

Оперативное вмешательство, связанное с проведением остеосинтеза, выявило резкое снижение RBC в 3,2 раза по сравнению с ФП и в 1,8 раза по сравнению с показателем на момент поступления. Как видно из табл.а2, количественные показатели гемоглобина (HGB, г/дл) и гематокрита (HCT, %) выявили аналогичные изменения. У спонтанно травмированных животных установлено снижение цветового показателя в 1,25 раза. Увеличивается показатель RDW в 1,4 раза, повышаются значения MCV, MCH, ретикулоцитов, СОЭ. Оперативное вмешательство сопровождается снижением MCHC в 1,3 раза, увеличивается значение MCV в 1,33, СОЭ в 1,6, ретикулоцитов в 1,9 раза по сравнению с предоперационным периодом.

Морфологические исследования эритроцитов продемонстрировали (табл. 2), снижение количества нормоцитов на момент поступления животного в клинику со спонтанной травмой в 1,2 раза. В этот период установлено снижение процентного содержания и микроцитов. Количество макроцитарных клеток в начале исследований увеличилось в 2,34 раза, а через сутки после остеосинтеза возросло в 1,4 раза по сравнению со спонтанной травмой. Процентное содержание дискоцитов в предоперационный и постоперационный периоды снизилось. Начиная с 3-х суток, процентный показатель дискоцитов постепенно увеличивался, но к окончанию эксперимента находился ниже ФП.

Таблица 3

Динамика морфологических показателей эритроцитов при спонтанной и операционной травме с предоперационным периодом 1-2 суток

Показатели Крови, %	Физиол показат (ФП)		Показатели на момент первичн приема		Показатели через 1-2 суток		Показатели после операции					
							1 сутки		3 сутки		5 сутки	
Группа № 1	М	м	М	м	М	м	М	м	М	м	М	м
Нормоциты	75,0	3,3	62,0	3,6	56,0	3,9	42,7	2,3	53,2	4,2	65,0	3,7
Микроциты	12,1	0,5	7,8	1,8	16,5	1,3	14,7	0,6	11,5	2,8	9,5	0,6
Макроциты	12,9	1,1	30,2	2,9	27,5	3,5	42,6	3,2	35,3	2,9	25,5	2,3
Дискоциты	85,8	3,3	83,3	2,9	78,1	3,4	67,3	3,6	69,7	2,3	76,8	3,2
Эхиноциты	8,2	0,8	9,0	1,9	9,2	1,3	18,2	2,1	13,2	1,6	9,5	2,2
Стоматоциты	2,8	0,02	3,2	0,1	5,9	0,7	6,9	0,06	4,1	0,05	2,3	0,02
Сфероциты	2,4	0,01	3,3	0,03	3,6	0,06	2,6	0,01	5,7	0,09	5,3	0,06
Шизоциты	0	0	0,8	0,02	1,2	0,03	1,6	0,1	2,2	0,01	0,2	0,01
Мишенев Эр	0,3	0,01	0,2	0,01	1,3	0,03	0,6	0,01	1,2	0,01	1,7	0,07
Монет столб.	0	0	0	0	0,6	0,01	1,5	0,03	1,9	0,2	2,4	0,3
Акантоциты	0,5	0,01	0,2	0,01	0,1	0,00	1,3	0,03	2,0	0,1	1,8	0,02
Яд формы	1,1	0,03	3,3	0,1	4,2	0,6	5,2	0,6	6,3	0,1	6,9	0,1
Г Жолли	1,2	0,06	6,4	0,8	9,1	0,3	15,0	0,7	19,3	1,8	18,2	2,1

Содержание эхиноцитов после операционной травмы увеличилось, что в 2 раза превышало значения спонтанной травмы. Процентное содержание стоматоцитов через сутки после операции увеличилось по отношению к спонтанной травме в 2,1 раза. Количество сфероцитов в предоперационный период менялось незначительно, но через сутки после операции их показатель снизился в 1,3 раза по сравнению со спонтанной травмой. Анализ эритроцитарной составляющей (табл 3) выявил на момент поступления клетки, которые в норме не встречаются. Так, нами отмечено появление в мазке крови шизоцитов. Появление в крови монетных столбиков нами установлено в период предоперационной подготовки, их количество увеличивалось на протяжении 3-х суток. Остеосинтез вызвал резкое (в 6,5 раза) увеличение количества акантоцитов по сравнению с показателями на момент поступления. Процентное содержание ядерных форм эритроцитов увеличивалось с момента поступления собак. Через сутки после операции изучаемый показатель в 1,7 раза превосходил значения спонтанной травмы. Увеличение скорости продукции эритроцитов в костном мозге в ответ на повышенное их потребление и потерю в периферической крови, вызвало появление в крови эритроцитов, содержащих тельца Жолли. После проведения остеосинтеза их значение превышало показатели спонтанной травмы в 2,34 раза.

Гистологическое исследование костной ткани и костного мозга в этот период показало, что через сутки после острой костной травмы канал диафиза кости заполнен кровяным сгустком, содержащим разрушенные эритроциты и множественные мононуклеарные клетки с хорошо окрашенными ядрами. На 3-и сутки в сгустке преобладают клетки фибробластических популяций. Ближе к кортикальному слою диафиза отмечается наличие

участков, имеющих большое количество лакун резорбции. Кость вблизи зоны повреждения имеет следы реактивных преобразований отмечено наличие сосудов различных степеней наполнения, в некоторых из них находятся смешанные тромбы К 5-м суткам в месте травмы отмечаются остаточные элементы смешанного тромба, просвет костномозгового канала заполнен рыхлой соединительной тканью, Между пучками волокон соединительной ткани присутствует значительное количество тонкостенных, с большим просветом сосудов Среди клеточных популяций соединительной ткани появляются макрофагальные и лимфоидные клетки. В этой зоне отмечена пролиферация комбинированных элементов грануляционной ткани, клеточная инфильтрация лимфоцитами и плазматическими клетками костного мозга. К 7-му дню область отломка заполнена фрагментами грубоволокнистой соединительной ткани, в которой отмечены очаги хондроиды.

При микроскопическом исследовании структуры костного мозга установлено, что строение сосудистых и гемопозитических компарментов без дистрофических и апластических изменений, хотя ряд особенностей, по сравнению с нормой, были ярко выражены На 1-2-е сутки после травмы обнаружены значительные изменения микрососудистого русла, характеризующиеся расширением сосудистых синусов, представленных тонкостенными венами Выражены очаги кровоизлияний Цитоплазма адвентициальных клеток набухшая, в некоторых клетках ядра приобретают вытянутый вид Просвет артериол сужен Клетки всех ростков костного мозга на разных стадиях пролиферации и дифференцировки, легко узнаваемы, не имеют дистрофических изменений. Клетки эритробластного ростка костного мозга находятся на различных стадиях пролиферации и дифференцировки. Наиболее дифференцированные эритроидные предшественники и зрелые эритроциты прилегают непосредственно к эндотелиальным клеткам сосудистых синусов На 7-е сутки отмечено значительное расширение и полнокровие сосудистых синусов Отчетливы очаги диапедезных кровоизлияний. Клетки миелоидного ростка костного мозга располагаются неравномерно, среди них преобладают молодые без видимых изменений формы

Таким образом, нами установлены значительные сдвиги показателей эритропоза. Посттравматический период характеризуется уменьшением эритроцитарной массы, возрастает суммарное количество эхиноцитов, стоматоцитов, сфероцитов и акантоцитов по отношению к дискоцитам, увеличивается количество монетных столбиков, возрастает число макроцитов по отношению к нормоцитам.

Анализ показателей эритропоза собак при спонтанной и операционной травме с предоперационной подготовкой 3-4 суток (1-ая серия опытов, группа № 2). Наблюдения проводили на спонтанно травмированных собаках (n=9) по аналогии с предыдущим исследованием Полученные данные в этой группе животных продемонстрировали аналогичные изменения в сравнении с 1-й группой, но уступали ей в выразительности сдвигов, при этом следует отметить положительную динамику морфологии и функции эритроцитов Коли-

чественные данные, полученные в этой серии опытов, в значительной части исследований находились в непосредственной близости к физиологическим показателям

Анализ показателей эритропоза собак при спонтанной и операционной травме с предоперационной подготовкой 5-7 суток (1-ая серия опытов, группа № 4). Исследование проводили на спонтанно травмированных собаках (n=4), поступавших на прием в течение 48 ч, с переломами длинных трубчатых костей.

Количество эритроцитов (табл 4) перед операцией в 1,6 раза превышало данные на момент поступления животных на первичный прием. Как видно из табл 4, эритроцитарный показатель собак после операций, проведенных через 5-7 суток, значительно превосходил показатели других групп на тот же срок исследований, причем небольшая разница была отмечена в отношении 1-й группы, где значения расходились в 2 раза. На 3-и сутки количество RBC увеличилось, что достоверно превышало данные 1 и 2-й групп. Тенденция к увеличению количества эритроцитов в крови собак сохранилась до окончания эксперимента. Предоперационное состояние нормоцитов достоверно превышало значения 1-й группы.

Таблица 4

Динамика морфофункциональных изменений эритропоза при острой травме с предоперационным периодом 5-7 суток

Показатели крови, % группа № 3	Физиол показат (ФП)		Показатели на момент первич приема		Показатели через период 5-7 суток		Показатели после операции					
							1 сутки		3 сутки		5 суток	
							М	m	М	m	М	m
RBC $\times 10^{12}/л$	5,8	0,6	3,0	0,3	4,8	0,6	3,6	0,2	5,3	0,1	5,6	0,1
HGB г/дл	14,5	0,6	9,0	1,8	13,0	2,1	12,5	1,7	10,5	1,6	13,9	1,7
HCT	39,5	2,7	22,0	2,2	27,0	3,9	29,6	1,4	32,6	3,6	36,7	2,9
Нормоциты	75,0	3,3	62,0	3,6	75,0	4,6	67,9	2,3	68,8	2,2	76,0	3,3
Микроциты	12,1	0,5	7,8	1,8	13,5	2,3	14,5	1,8	12,7	2,1	13,1	2,3
Макроциты	12,9	1,1	30,2	2,9	11,5	1,1	17,6	1,6	18,5	2,7	10,9	1,9
Дискоциты	85,8	3,3	83,3	2,9	86,1	3,9	82,3	4,3	86,2	5,2	85,6	3,9
Эхиноциты	8,2	0,8	9,0	1,9	6,1	1,3	9,3	0,9	8,2	0,9	8,2	1,2
Стоматоциты	2,8	0,02	3,2	0,1	3,6	0,7	3,9	0,03	3,1	0,09	3,6	0,09
Сфероциты	2,4	0,01	3,3	0,03	2,6	0,06	2,3	0,02	2,5	0,01	2,6	0,01
Шизоциты	0	0	0,8	0,02	0,3	0,03	0,6	0,01	0	0	0	0
Мишенев. эр	0,3	0,01	0,2	0,01	0,5	0,03	0,1	0,01	0	0	0	0
Монет Столб	0	0	0	0	0,6	0,01	0,8	0,03	0	0	0	0
Акантоциты	0,5	0,01	0,2	0,01	0,2	0,00	0,7	0,02	0	0	0	0
Яд формы	1,1	0,03	3,3	0,1	3,7	0,3	1,3	0,06	2,1	0,03	1,2	0,3
Т. Жолли	1,2	0,06	6,4	0,8	13,2	1,1	13,9	0,3	9,1	0,3	8,7	0,7

Количество нормоцитов незначительно снизилось на 1-е сутки после операции по сравнению с предоперационным показателем, при этом уступая значениям 2-й и превосходя показатели 1-й группы в 1,7 раза. Процентная концентрация макроцитов в течение первых суток после операции увеличилась в 1,5 раза по сравнению с предоперационным состоянием. Количество дискоцитов перед операцией достоверно превосходило значения 1-й группы. На 1-е сутки постоперационного периода показатели данной группы снизились, но превосходили показатели других групп.

Исследования динамики эхиноцитов, стоматоцитов, сфероцитов, шизоцитов, мишеневидных клеток, монетных столбиков, акантоцитов, эритроцитов с ядерными формами и тельцами Жолли продемонстрировали незначительные колебания их количественного состава, как в предоперационный период, так и после проведения остеосинтеза. При этом следует отметить, что данные показатели значительно уступали значениям 1-й и 2-й групп. В результате проведенных исследований установлено, что морфофункциональные изменения эритроцитарного звена продемонстрировали положительную динамику, находящуюся в прямой зависимости от продолжительности предоперационной стабилизации травмированных животных.

Сравнительный анализ показателей эритробластического роста костного мозга при спонтанной и операционной травмах. Спонтанная травма вызвала снижение процентного содержания эритробластов и базофильных нормобластов (БФНБ). Количество полихроматофильных нормобластов (ПХФНБ) увеличилось, при снижении количества оксифильных (ОФНБ). Оперативное вмешательство, выполненное через сутки после травмы, выявило сужение эритробластического роста на уровне эритробластов, а также на уровне ОФНБ. Расширение роста установлено нами за счет БФНБ и ПХФНБ. Операция на 3-4-е сутки также выявила сужение эритробластического роста на уровне эритробластов, БФНБ и ОФНБ. Расширение установлено на уровне ПХФНБ. Остеосинтез посредством интрамедуллярного введения штифта через 5-7 суток после травмы выявил аналогичные изменения в сравнении с другими группами. Общее количество эритробластических клеток показало, что их количество снизилось у травмированных и оперированных на 1-2-е сутки по сравнению с исходными данными. Увеличение общего количества эритробластических клеток отмечено нами при проведении операции на 3-4 и 5-7 сутки.

Таким образом, оперативное вмешательство, выполненное на 1-2-е сутки после травмы, сопровождается более выраженными и тяжелыми изменениями со стороны эритроцитарной составляющей крови и костного мозга по сравнению с физиологическими показателями и значениями, сопровождающими травматический перелом конечности. Оперативное вмешательство, выполненное на 3-4-е сутки после перелома, демонстрирует положительную динамику по основным параметрам эритропоэза. Остеосинтез на 5-7-е сутки сопровождается аналогичными изменениями в сравнении со спонтанной травмой, но качественное и количественное выражение динамики эритрона находится в диапазоне, грани-

чащем с физиологическими показателями, или не отражает достоверной разницы

Оперативное вмешательство, согласно показателям эритрона целесообразно проводить не ранее 5-го дня после спонтанной травмы Структура фрагментов костной ткани и костного мозга, полученных у собак в момент операции, изученная на гистосрезках, представлена закономерными изменениями. В костном мозге отмечали увеличение венозных синусов, участки кровоизлияний с наличием большого количества митозов, апластических и дистрофических изменений не выявлено

Характеристика структурной и функциональной составляющих красной крови собак, под воздействием фоспренила в предоперационный период (2-я серия опытов). Иммунокорректор инъецировали животным, разделенным на 3 подгруппы. 1-я подгруппа получала фоспренил в течение 1–2-х суток (n=4), 2-я подгруппа на протяжении 3–4 суток (n=5) и 3-я – 5-ти суток (n=3), после чего проводили остеосинтез Контролем служили данные, полученные в 1-й серии опытов на те же сроки исследований

Как представлено в табл 5, динамические сдвиги RBC под воздействием препарата фоспренил увеличивались на протяжении всего наблюдения по сравнению с периодом на момент поступления Значение HGB постепенно увеличивалось, и показатели превышали значения, полученные на момент поступления Исследования процентного содержания нормоцитов (табл. 5) выявило увеличение их количества, к 3-м суткам превышающее значение на момент поступления в 1,2 раза. К 5-м суткам отмечено некоторое снижение, которое находилось в пределах ФП. Как следует из табл 5, изучение микроцитов показало, что процентное их содержание на протяжении всего эксперимента достоверно превосходило показатели, полученные на момент первичного приема Иммунокоррекция способствовала снижению количества макроцитов по сравнению с данными, полученными на момент первичного приема в 1,6 раза Количество дискоцитов увеличивалось на протяжении всего периода наблюдений, находясь в диапазоне ФП Содержание экиноцитов незначительно снизилось по сравнению с данными на момент поступления, но динамика их процентной концентрации находилась в пределах ФП Значения стоматоцитов превышали исходные и экспериментальные данные на момент поступления до 3-х суток Аналогичная картина установлена нами при изучении процентного содержания сфероцитов (табл 5). Появление шизоцитов в крови собак на момент поступления сменилось резким снижением их количества в первые сутки, после чего в мазках крови их присутствие не установлено Количество мишеневидных эритроцитов на 1-е сутки после операции уступало значениям на момент поступления. Монетные столбики (табл 5) установлены нами с первых суток Количественный показатель их увеличивался до 3-х суток, в дальнейшем их наличие не установлено. Процентное содержание акантоцитов после начала иммунокоррекции достоверно превышало ранее полученные показатели, но уже к 3-м суткам их количество стало снижаться, а к 5-м показатель акантоцитов опустился ниже ФП Увеличение количества ядерных форм эритроцитов мы отмечали, начиная с первых

суток проведения коррекции, к 3-м суткам активность снизилась. Процентное содержание эритроцитов с тельцами Жолли снижалось после использования иммунокоррекции, что уступало первоначальным данным в 1,7 раза (табл. 5)

Таблица 5

Динамика эритроцитарных показателей крови собак, под воздействием фоспренила в предоперационный период

Показатели крови, % Группа № 4	Физиол. показат (ФП)		Дни исследования								
			Показатели после травм		1-2 сутки (1 п/гр)		3-4 сутки (2 п/гр)		5-7 сутки (3 п/гр)		
	М	м	М	м	М	м	М	м	М	м	
RBC $\times 10^{12}/л$	5,8	0,6	3,0	0,3	4,2	0,3	5,4	0,2	6,0	0,4	
HGB г/дл	14,5	0,6	9,0	1,8	13,1	2,6	14,8	2,1	15,5	3,3	
HCT %	39,5	2,7	22,0	2,2	29,7	2,1	37,9	2,4	38,6	3,1	
Нормоциты	75,0	3,3	62,0	3,6	69,5	2,3	73,6	3,3	74,8	2,8	
Микроциты	12,1	0,5	7,8	1,8	12,0	0,4	12,7	1,3	11,0	2,7	
Макроциты	12,9	1,1	30,2	2,9	18,5	2,3	13,7	0,3	14,2	0,9	
Дискоциты	85,8	3,3	83,3	2,9	83,9	3,3	84,5	3,5	85,9	2,3	
Эхиноциты	8,2	0,8	9,0	1,9	8,5	0,3	8,4	0,3	8,6	0,5	
Стоматоциты	2,8	0,02	3,2	0,1	3,3	0,03	4,1	0,3	2,4	0,06	
Сфероциты	2,4	0,01	3,3	0,03	2,5	0,06	2,1	0,02	2,9	0,09	
Шизоциты	0	0	0,8	0,02	0,3	0,01	0	0	0	0	
Мишенев эритр	0,3	0,01	0,2	0,01	0,1	0,00	0	0	0	0	
Монетн столб	0	0	0	0	0,6	0,01	0,3	0,01	0	0	
Акантоциты	0,5	0,01	0,2	0,01	0,8	0,01	0,6	0,01	0,2	0,00	
Ядерные формы	1,1	0,03	3,3	0,1	4,1	0,02	3,6	0,6	2,2	0,06	
T Жолли	1,2	0,06	6,4	0,8	3,7	0,05	3,2	0,6	2,1	0,01	

Использование фоспренила вызвано необходимостью усиления пролиферации и дифференцировки макрофагальных клеток, увеличением фильтрационной способности лимфоидных органов, что направлено на уничтожение структурно измененных эритроцитов, как одного из факторов интоксикации, развивающейся в посттравматический период

Анализ оперативного вмешательства после применения фоспренила в дозе 1,0 мл/кг/сут на фоне общей стабилизации животного в течение 1–2-х суток после поступления на первичный прием сопровождалось осложнениями у 1-го из 4-х животных в виде острой почечной недостаточности. Постоперационное состояние животных, которым остеосинтез был выполнен в более поздние сроки – с 3 по 7-е сутки, не выявило клинических проявлений, выходящих за рамки тех изменений, наличие которых предусмотрено аналогичными операциями

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Морфофункциональные исследования показателей эритропоза при травматических переломах костной ткани спонтанно травмированных собак, выявили прямую зависимость морфофункциональных изменений эритроцитарной составляющей крови от травматического воздействия на костную ткань У спонтанно травмированных животных установлено снижение количества эритроцитов, гемоглобина и гематокритного числа, количества тромбоцитов Увеличивается показатель анизоцитоза Снижается объем эритроцитов к их числу, а также среднее содержание гемоглобина в эритроците. Возрастает количество ретикулоцитов, накопление ядерных форм эритроцитов, а также клеток с тельцами Жолли Структура эритроцитов изменяется под воздействием острой травмы, снижается число нормоцитов, дискоцитов В крови увеличивается содержание эхиноцитов, стоматоцитов и сфероцитов, мишеневидных клеток, акантоцитов Появляются шизоциты – клетки, не встречающиеся в нормальной крови, происходит формирование монетных столбиков, что свидетельствует о глубоких метаболических нарушениях в системе крови Структурные изменения костной ткани происходят в соответствии с законами репарации тканей Морфологические изменения в костном мозге характеризуются кровоизлияниями и наполнением сосудистого русла, без апластических и дистрофических изменений

Оперативное вмешательство, выполненное на 1–2-е сутки после травмы, сопровождается более тяжелыми изменениями со стороны красной крови по сравнению с физиологическими данными и показателями, сопровождающими травматический перелом конечности Остеосинтез, проведенный на 3–4-е и 5-е сутки, сопровождается аналогичными изменениями по сравнению с механической травмой, но структурное и функциональное выражение динамики эритрона позволяет проводить операцию без риска гнойных и органических осложнений

Применение фосфенила в комплексе посттравматической коррекции оказывает стабилизирующее влияние на структурно-функциональные изменения красной крови собак. Количественные и качественные преобразования эритроцитарной массы позволили сократить количество осложнений в постоперационный период.

Результаты экспериментальных и клинических исследований показывают, что необходим полноценный контроль над состоянием травмированных животных, а также создание системы предоперационной подготовки, включающей иммунокорректор с выраженной макрофагальной активностью, как основы стабилизации организма за счет усиления фильтрационных возможностей лимфоидных органов Показатели структурных и функциональных изменений эритропоза, экспериментальных и спонтанно травмированных животных, раскрывают закономерность эритрокинеза в посттравматический период. Полученные результаты дают основание для научно обоснованных подходов к предоперационной стабилизации животных, позволят расширить представление о травматизме и раскрыть патогенетические аспекты травм как одной из приоритетных задач общей патологии

ВЫВОДЫ

1. Морфофункциональные изменения эритропоэза после острой спонтанной и операционной травм основаны на количественных сдвигах в период своего костномозгового развития и качественных преобразованиях кровяных клеток в циркуляторном русле. При этом прямо пропорциональны течению посттравматического периода и тактике предоперационной коррекции.
2. Мониторинг осложнений при травмах конечностей показал, что при оперативном вмешательстве в течение 48 ч ($n=32$) после травмы постоперационные осложнения составляют 40,7 %, гибель животных 31 % случаев, оперативное вмешательство через 3-4 дня ($n=31$) вызывает осложнения в 19,3 % случаев, а гибель в 16,5 %. Операция через 5-7 суток ($n=21$) сопровождается осложнениями в 23,8 %, а гибелью – в 4,7 % случаев.
3. У спонтанно травмированных животных установлено снижение количества RBC до $3,0 \pm 0,3 \times 10^{12}/л$, HGB ($9,0 \pm 1,8$ г/дл), HCT ($22,0 \pm 2,2$ %), MCHC ($28,9 \pm 3,1$ г/дл) ЦП ($0,60 \pm 0,07$). Увеличиваются показатели RDW ($17,2 \pm 2,6$ %), MCH ($30,0 \pm 3,1$ пг), ретикулоцитов ($6,1 \pm 1,1$ %).
4. Структура эритроцитов изменяется под воздействием острой травмы, снижается число нормоцитов ($62,0 \pm 3,6$ %), дискоцитов ($83,3 \pm 3,9$ %). В крови увеличивается содержание эхиноцитов, стоматоцитов и сфероцитов, ядерных форм эритроцитов ($3,3 \pm 0,1$ %), а также клеток с тельцами Жолли ($6,4 \pm 1,8$ %). Появляются шизоциты ($0,8 \pm 0,02$ %), происходит формирование монетных столбиков.
5. Структурные изменения костной ткани после перелома происходят в соответствии с законами репарации тканей. В костном мозге обширные очаги кровоизлияний, апластические и дистрофические изменения отсутствуют, динамические сдвиги показателей эритробластического роста характеризуются его расширением на уровне базофильных и полихроматофильных нормобластов, сужением роста на уровне эритробластов и оксифильных нормобластов.
6. Оперативное вмешательство, выполненное в период 1-4-х суток после травмы, сопровождается более тяжелыми изменениями со стороны красной крови по сравнению с физиологическими данными и показателями, сопровождающими травматический перелом конечности.
7. Остеосинтез, проведенный на 5-е сутки, сопровождается аналогичными изменениями по сравнению с механической травмой, но количественное выражение динамики эритропоэза находится в диапазоне, граничащем с физиологическими показателями, или не отражает достоверной разницы между ними.
8. Оперативное вмешательство, согласно показателям эритропоэза, целесообразно проводить не ранее 5-х суток после спонтанной травмы.
9. Применение фосфренила в предоперационный период оказывает стабилизирующее влияние на структурно-функциональные изменения красной крови собак, позволяет сократить время предоперационной подготовки. Оперативное вмешательство, выполненное после 3-х суток, не выявило постоперационных осложнений.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

Методические рекомендации «Показатели факторов естественной резистентности при костной травме у животных» для студентов специальности 110501 - Ветеринарно-санитарная экспертиза, 110502 – Ветеринария.

Научные положения, изложенные в диссертации, могут быть использованы при чтении лекций и проведении лабораторно-практических занятий по курсу патологической физиологии и ветеринарной хирургии, написании учебных, учебно-методических пособий и монографий. Полученные данные, могут быть использованы в ветеринарии при планировании предоперационной стабилизации животных и оперативных вмешательств, а также служить экспериментальной моделью при исследовании острых посттравматических состояний в гуманитарной медицине.

СПИСОК РАБОТ ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Ватников Ю.А. Состояние эритронов при острой травме у животных / Ю.А. Ватников, Д.А. Ротанов // Актуальные проблемы ветеринарной медицины и ветсанконтроля сельскохозяйственной продукции. Материалы 5-й международной научно-практической конференции – М, 2004. – С 133-134.

2. Ватников Ю.А. Состояние эритронов при острой экспериментальной травме у лабораторных животных / Ю.А. Ватников, Д.А. Ротанов // Материалы XIII Международного Московского конгресса по болезням мелких домашних животных – М, 2005 – С. 54

3. Ватников Ю.А. Анализ структуры и функции эритроцитов собак при спонтанной и операционной травме / Ю.А. Ватников, Д.А. Ротанов, Е.Б. Бажибина // Ветеринария – 2007. – №2 – С 44-48

4. Ротанов, Д.А. Сравнительная характеристика тяжести травм у собак по изменениям структуры и функции эритроцитов / Д.А. Ротанов, Ю.А. Ватников // Аспирант и соискатель. – 2007. – №1 – С. 61-65

5. Ватников Ю.А. Показатели факторов естественной резистентности при костной травме у животных. Методические рекомендации для студентов специальности 110501, 110502 / Ю.А. Ватников, А.И. Белых, Д.А. Ротанов. – М: МГУПБ, 2006 – 16 с

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- ФП** – физиологический показатель;
- RBC** (Red blood cells) – эритроциты,
- HGB** (Hemoglobin) – гемоглобин;
- HCT** (Hematocrit) - гематокрит;
- MCV** – (Mean corpuscular volume) отношение объема эритроцитов в данном объеме крови к числу эритроцитов в том же объеме,
- MCH** – (Mean corpuscular hemoglobin) среднее содержание гемоглобина в эритроците;
- MCHC** – (Mean corpuscular hemoglobin concentration) количество гемоглобина (в г) в 100 мл эритроцитов;
- RDW** – показатель анизозитоза эритроцитов (где, SD – стандартное отклонение объема эритроцитов от среднего значения;
- MCV** – средний объем эритроцитов);
- HCT** - объем эритроцитов/ объем плазмы %;
- ЦП** – цветовой показатель (отношение гемоглобина к эритроцитам),
- СОЭ** - скорость оседания эритроцитов;
- КМ** – костный мозг;
- БФНБ** - базофильные нормобласты;
- ПХФН** - полихроматофильные нормобласты;
- ОФНБ** - оксифильные нормобласты;
- ССН** – сердечно-сосудистая недостаточность;
- ОПН** – острая почечная недостаточность.

$MCH = HGB / RBC \times 10 \text{ пг};$

$MCHC = HCB / HCT \times 10 \text{ г/дл}$

$RDW = SD / MCV \times 100\%$

$MCV = HCT / RBC$



Отпечатано в типографии ООО «Франтера»

ОГР № 1067746281514 от 15.02.2006г

Москва, Талалихина, 33

Подписано к печати 07.05.2007г.

Формат 60x84/16. Бумага «Офсетная №1» 80г/м²

Печать трафаретная Усл печ л 1,25. Тираж 100 Заказ 206.

WWW.FRANTERA.RU