



003455206

На правах рукописи

Гессе Ирина Юрьевна

**Иммуноморфологические аспекты цитокиновой
оптимизации репаративного остеогенеза у собак
в условиях внешней стержневой фиксации**

16.00.02 - патология, онкология и морфология животных

16.00.05 - ветеринарная хирургия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

05 ДЕК 2008

Саратов 2008

Работа выполнена на кафедре патанатомии и патофизиологии ФГОУ ВПО
«Саратовского ГАУ им. Н.И. Вавилова»

Научные руководители: доктор ветеринарных наук, профессор,
Скорляков Виктор Михайлович
доктор ветеринарных наук, доцент,
Анников Вячеслав Васильевич

Официальные оппоненты: доктор ветеринарных наук, профессор,
Салаутин Владимир Васильевич
доктор ветеринарных наук, профессор,
Самошкин Игорь Борисович

Ведущая организация: ФГОУ ВПО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана».

Защита диссертации состоится «22» декабря 2008 г. в 11 часов на заседании диссертационного совета Д 220.061.01 при ФГОУ ВПО «Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова» по адресу: 410005, г. Саратов, ул. Соколовая, 335. Тел: 8-(8452)-69-25-32.

Отзывы просим высылать по адресу: ФГОУ ВПО «Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова» 410012, РФ, г. Саратов, Театральная пл., 1, диссовет Д 220.061.01.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО «Саратовского ГАУ им. Н.И. Вавилова».

Автореферат разослан «20» ноября 2008 г. и размещен на сайте <http://www.sgau.ru>

Ученый секретарь диссертационного совета



Егунова А.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Вопросам оптимизации репаративного остеогенеза в последнее время уделяется достаточно много внимания. Были предложены различные способы коррекции остеорепарации. Для улучшения результатов лечения больных с переломами костей и различными ортопедическими патологиями Г.И. Илизаровым, С. Faure, П.Н. Анкиным, М.Я. Баскевичем и другими авторами были разработаны устройства и аппараты для стабильной фиксации костных фрагментов. Наряду с этим в клиническую практику И.Л. Дигеном, Г.Н. Берченко, Г.А. Кесяном, В.В. Анниковым, Н.А. Слесаренко, О.В. Бейдиком внедрены различные биологические и физические способы стимуляции образования костной мозоли при лечении травматологически больных.

А.Г. Бабаева и Ю.А. Ватников доказали, что при травме лобного генеза возникает иммунодефицитное состояние. При исследовании остео- и иммуногенеза А.А. Аскалонов, С.М. Гордиенко, А.М. Ривани, Ю.В. Редькин, Т.Ф. Соколова, К.С. Десятниченко выявили отчетливую корреляционную связь между состоянием иммунной системы и репаративными процессами в костной ткани, а также характером течения послеоперационного периода.

В то же время, Е.А. Мезенцева при использовании рекомбинантных цитокинов, обеспечивающих адекватную целенаправленную медикаментозную коррекцию иммунных дисфункций добилась повышения эффективности иммунной терапии и лечения в целом. Это особенно важно в условиях тяжелой или хронической патологии, когда применение традиционных иммуномодуляторов или индукторов синтеза цитокинов становится безуспешным из-за истощения компенсаторных возможностей иммунной системы.

В связи с вышесказанным, нами проведено исследование морфофункционального состояния организма у экспериментально больных животных и клинико-рентгенологический мониторинг спонтанно травмированных собак с переломами трубчатых костей для системного, научно обоснованного подхода к вопросам эффективной организации репаративного остеогенеза на основе цитокиновой оптимизации.

Целью исследований явилось обоснование применения рекомбинантного интерлейкина-2 человека с целью индукции репаративного остеогенеза в условиях внешней фиксации аппаратами стержневого типа на базе клинико-рентгенологических, иммуноморфологических и биохимических исследований.

Для реализации поставленной цели были определены следующие задачи **диссертационной работы.**

1. На основании клинико-морфологических показателей крови обосновать остеоиндуцирующее влияние ронколейкина на процессы остеорепарации.
2. Провести сравнительный анализ остеоиндуцирующего влияния рекомбинантного интерлейкина-2 человека в сравнении с синтетическим иммуномодулятором (полиоксидонием).
3. Изучить гематологические показатели при индуцированном противовоспалительным цитокином остеогенезе.

4. Провести сравнительный анализ динамики основных биохимических показателей при форсированном репаративном остеогенезе.

5. Определить цитокиновый профиль индуцированного ронколейкином остеогенеза.

6. Дать экономическое обоснование применению ронколейкина в ветеринарной травматологии.

7. Провести анализ лечения спонтанно заболевших собак с переломами трубчатых костей различной степени тяжести.

Научная новизна. На основании клинико-рентгенологических и морфологических показателей обосновано остеиндуцирующее влияние ронколейкина.

С учетом биохимических характеристик показано стимулирующее влияние ронколейкина на процессы остеорепарации.

Опираясь на результаты морфологического исследования крови доказана эритропоэтическая активность ронколейкина.

На основании изучения иммунологических показателей (интерлейкин-4, интерферон- γ , фактор некроза опухоли- α) доказано, что ронколейкин является классическим иммуномодулятором, воздействуя на T- и B-клеточные звенья иммунитета.

С учетом полученных клинико-морфологических характеристик разработана методика применения ронколейкина с целью оптимизации репаративного остеогенеза в ветеринарной травматологии.

Теоретическая и практическая значимость работы:

- на основании экспериментального моделирования, комплекса клинических, биохимических и иммунологических исследований научно обоснованы основные положения о возможности стимуляции репаративного остеогенеза при переломах посредством ронколейкина в условиях фиксации стержневыми аппаратами;

- по итогам научной работы предложена методика оценки иммунологического статуса травматологически больных животных путем определения цитокинового профиля в целях контроля и ранней коррекции возникающих осложнений;

- разработана методика индукции репаративного остеогенеза, внедренная в практику ветеринарной травматологии;

- материал диссертации используется в цикле лекций «Ветеринарная хирургия» для студентов очного и заочного форм обучения, слушателей ФПК, а также в практической работе ветеринарных врачей г.г. Саратова, Энгельса, Москвы, Ростова-на-Дону, Омска.

Объект и предмет исследования. Объектами исследования явились экспериментальные животные (кролики) и спонтанно травмированные собаки. Предметом исследования послужили результаты клинического осмотра, рентгенограммы, цельная кровь и ее сыворотка.

Связь исследований с научной программой. Диссертационная работа выполнена в рамках научно-исследовательской работы в соответствии с планом НИР СГАУ им. Н.И. Вавилова, регистрационный номер 2 от 26.10.2005.

Апробация работы. Основные положения диссертационной работы доложены: на научно-практических конференциях профессорско-преподавательского состава и аспирантов Саратовского государственного аграрного университета им. Н.И. Вавилова по итогам научно-исследовательской работы (2005 – 2006гг.); на Всероссийской конференции инновационных проектов аспирантов и студентов «Живые системы» (г.Киров, 2005г.); на Всероссийской научно-практической конференции ассоциации практикующих ветеринарных врачей (г.Саратов, 2005 – 2006гг.); на Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 119-й годовщине со дня рождения Н.И. Вавилова «Вавиловские чтения» (г.Саратов, 2006г.).

Публикации результатов исследования. По материалам диссертации опубликовано 9 печатных работ, из них одна в издании, рекомендованном ВАК РФ. Результаты исследования отражены в одном справочном издании «Современный справочник врача ветеринарной медицины».

Объем и структура диссертации. Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы и приложений. Изложена на 201 страницах машинописного текста. Приложения содержат сведения о проделанной работе. Работа иллюстрирована 25 рентгенограммами, 6 таблицами, 14 диаграммами, 6 графиками, 11 фотографиями. Список литературы включает 337 источников, из них отечественных 266, зарубежных - 71.

Основные положения, выносимые на защиту.

Разработанный метод цитокиновой оптимизации репаративного остеогенеза позволил сократить сроки сращения свежих, излечить пациентов с нагноившимися переломами, добиться сращения псевдоартрозов.

Сравнительный анализ динамики гематологических показателей свидетельствует об эритропоэтической активности ронколейкина.

Закономерности биохимических изменений в послеоперационный период доказывали, что иммунокоррекция в условиях внешней стержневой фиксации создала оптимальные биомеханические условия для реабилитации травматологически больных животных.

Установленные изменения в динамике цитокинов крови позволяют прогнозировать процесс и контролировать качество проводимого лечения.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования по теме диссертации проводились с 2004 по 2007 г.г. на кафедре патологической анатомии и патофизиологии ФГОУ ВПО «Саратовского ГАУ им. Н.И. Вавилова».

Экспериментальная работа выполнена на тридцати шести кроликах породы «Серый великан» и «Венский белый» в возрасте шести месяцев. По принципу аналогов были сформированы три группы животных: первая и вторая группы – опытные, третья – контрольная. В каждой группе находилось по двенадцать животных.

Для проведения опыта моделировали флекссионный перелом костей голени, а через двое суток устанавливали аппараты внешней стержневой фиксации.

Кроликам всех групп проводили превентивную антибиотикотерапию, санацию остеофиксаторов, иммунокоррекцию. Последняя заключалась в введении ронколейкина кроликам первой группы подкожно в дозе 20000 ЕД/кг живой массы на 1; 3; 5; 7 сутки терапии. Животным второй группы инъецировали полиоксидоний внутримышечно в дозе 0,1 мг/кг живой массы на 3; 4; 5; 9; 10; 11 сутки терапии.

Рентгенологическое исследование проводили на первые, четырнадцатые и тридцатые сутки после установки аппарата внешней стержневой фиксации, а также сразу после демонтажа конструкции. Использовался стандартный рентгенологический аппарат РУМ-20-М-1 и передвижной рентгенологический аппарат 12П-6. Выбор проекции и анализ рентгенологической информации осуществляли в соответствии с классическими руководствами (Г.А. Зеденидзе, А.Н. Кишковский, Ю.Г.Елашов и др., 1984; М.В. Щукин, 1988).

Систематизацию переломов проводили по классификации АО/ASIF (А.И.Майоров, 2001).

В движении исследовали вид хромоты и степень нагрузки поврежденной конечности. Анатомо-функциональную оценку остеосинтеза проводили по методике И.Б. Самошкина (1989).

Исследование крови для определения иммунологических, биохимических и гематологических показателей проводили до и на 1; 10; 20; 30 сутки после операции.

Гематологические и биохимические исследования проводили по общепринятым в клинической ветеринарной практике методам.

Количество эритроцитов и уровень гемоглобина определяли с помощью фотоэлектрического эритрогеметра (модель 065), скорость оседания эритроцитов определяли микрометодом Панченкова (И.П. Кондрахин, Н.В. Курилов, А.Г. Малахов и др., 1985). Вычисления цветного показателя (Г.А. Симонян, Ф.Ф. Хисамутдинов, 1995) и системного индекса красной крови определяли расчетным путем (М.А. Дерхо, 2004). Подсчет количества лейкоцитов производили в счетной камере Горяева, лейкограмму выводили четырехпольным методом Шиллинга, используя лабораторный счетчик СЛ-1 (И.П. Кондрахин, Н.В. Курилов, А.Г. Малахов и др., 1985).

Общий белок сыворотки крови определяли биуретовым методом с использованием фотоэлектроколориметра, для определения активности щелочной фосфатазы использовался кинетический метод (В.М. Холод, Г.Ф. Ермолаев, 1988). Определения общего кальция в сыворотке крови проводили комплексометрическим методом с индикатором флюорексоном (по Вичеву и Каракашеву) (А.А. Покровский, 1969). Уровень ионизированного кальция определяли расчетным методом по Тодорову (Й. Тодоров, 1968). Неорганический фосфор определяли в сыворотке крови по Коромыслову и Кудрявцевой (А.М. Смирнов, 1985).

Иммунологические показатели (интерферон- γ , интерлейкин-4, фактор некроза опухоли- α) определяли на полуавтоматическом анализаторе СТАТ-FAХ-2100 «сендвич» методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием набора реагентов «ИФА-БЕСТ» производства ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск) (Т.Г. Рябичева, Н.А. Варакин, Н.В. Тимофеева, М.Ю. Руковишников, 2005).

Полученные результаты были обработаны общепринятыми методами на

компьютере Intel Pentium-4 с использованием программы Statistica 6. При этом вычислялись средний арифметический показатель, ошибка средней арифметической и коэффициент достоверности показателей по отношению друг к другу (Д. Сепетлиев, 1968; С. Гланц, 1999).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клинический мониторинг форсированного остеогенеза у опытных животных проводился ежедневно. Он включал термометрию, исследование пульса, частоты дыхания, оценку общего состояния, биомеханическую оценку движений.

На контрольных рентгеновских снимках животных всех групп через сутки после операции можно было видеть отломки, зафиксированные аппаратом стержневого типа в правильном положении, с допустимым диастазом.

В последующем, в клиническом состоянии экспериментальных животных отмечались изменения, в частности, на четырнадцатые сутки после остеоклазии во всех группах кролики активно передвигались, принимали корм и воду. У животных 1 группы отмечали отсутствие признаков воспаления на прооперированной конечности. У кроликов 2 группы сохранялась незначительная безболезненная отечность, в то время как у животных 3 группы в прооперированной зоне присутствовала небольшая болезненность.

На рентгенограммах, выполненных через 14 суток после установки аппарата внешней фиксации, мы наблюдали различия организации костной структуры в зависимости от проведенной терапии. В частности, у животных 1 группы отчетливо просматривалась характерная для данного периода картина формирования костной мозоли: незначительная размытая тень в зоне проксимального и дистального отломков большой берцовой кости с сохранением полосы диастаза в месте перелома, отсутствие периостальной реакции. На рентгенограммах кроликов 2 группы периостальная реакция в участке остеоклазии явно просматривалась. Костный регенерат был неоднороден по структуре и увеличен в диаметре по отношению к диаметру материнских отделов кости. Рентгенологическая характеристика костной мозоли животных контрольной группы была более приближена ко второй группе. В частности, размытая тень в зоне нарушения целостности кости большой берцовой кости, с сохранением полосы диастаза в месте перелома, незначительная периостальная реакция.

На рентгенограммах, выполненных через 30 суток после остеосинтеза, явно просматривалась корреляция между качеством формирования костной мозоли и проводимой специфической терапией. На снимках животных 1 группы можно было отчетливо видеть однородно сформированную мозоль, место перелома диастаза не визуализировалось. У животных 2 и 3 групп на тридцатые сутки эксперимента костная мозоль была в завершающей стадии формирования. В частности, прослеживалось прерывание кортикальной пластинки, зона нарушения костной ткани визуализировалась, поскольку регенерат имел различную плотность с прилежащими материнскими отделами кости. Последнее было особо различимо на рентгенограмме кроликов третьей группы.

Таким образом, клинические и рентгенологические изменения в течение эксперимента между группами были связаны, с нашей точки зрения, со способом лечения. В частности, позитивные изменения у кроликов I группы были обусловлены иммуноспецифическими свойствами ронколейкина. Что привело к более раннему, в отличие от других групп, восстановлению трофики мягких и костной тканей, наиболее качественной консолидации отломков, формированию полноценного регенерата.

Динамика гематологических показателей на фоне оптимизации репаративного остеогенеза. При морфологическом исследовании крови в ходе потенцированного репаративного остеогенеза у экспериментальных животных определяли лейкоцитарную составляющую и функциональную активность эритроцитов, динамика которой представлена на рисунке 1.

Как показано на сравнительных графиках, в первые сутки послеоперационного наблюдения фиксировалось снижение системного индекса красной крови (СИКК), который положительно коррелировал с уровнем гемоглобина и эритроцитов.

На протяжении всего опыта цветной показатель, позволяющий выявлять и дифференцировать послеоперационную анемию, не превышал допустимого уровня (нормохромия), что говорило об отсутствии явного угнетения эритропоэза. На фоне развивающегося воспалительного ответа организма на травму костной ткани наблюдалось повышение СОЭ во всех группах, но наиболее высоким этот показатель был в контрольной (3,6 мм/ч).

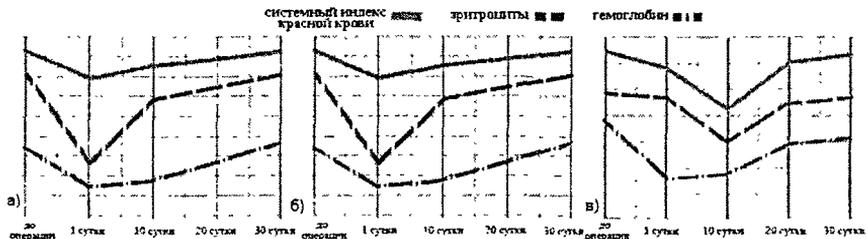


Рис. 1. Корреляция СИКК с уровнем эритроцитов и гемоглобина кроликов: а) первая группа; б) вторая группа; в) третья группа.

Соответственно наблюдалось достоверное повышение концентрации лейкоцитов до уровня верхней границы нормы или незначительно превосходило ее (в первой группе с 8,83 до 9,31 тыс/мкл ($p < 0,05$), во второй – с 9,12 до 11,16 тыс/мкл ($p < 0,01$), в контрольной группе – с 8,78 до 11,1 тыс/мкл ($p < 0,05$)). Лейкоцитоз сопровождался изменением лейкограммы. Количество нейтрофилов изменялось за счет повышения палочкоядерных и снижения концентрации сегментоядерных нейтрофилов. Кроме этого, значительно увеличивалось количество незрелых форм нейтрофилов (в 1 группе – 0,4%; во 2 группе – 0,2%; в 3 группе – 0,4%). Уровень базофилов в первой группе снизился до пределов физиологической нормы на фоне незначительного моноцитоза. В динамике эозинофилов отмечались различия, так как в 1 группе наблюдалось достоверное снижение до 1,8% ($p < 0,05$), а во 2 и 3 –

повышение до верхней границы нормы 3,0% ($p<0,05$) и 2,2% соответственно. Кроме этого наблюдалась достоверная лимфопения: в 1 группе снижение произошло до 51,5% ($p<0,05$), во 2 до 48,6% ($p<0,05$), в 3 – 48,8% ($p<0,05$).

На десятые сутки эксперимента в 3 группе понижение уровня эритроцитов продолжалось (4,78млн/мкл ($p<0,01$)), вследствие чего СИКК понизился до $525,8 \times 10^{-8}$ ($p<0,01$). В 1 и 2 группах его уровень достоверно поднялся до $656,32 \times 10^{-8}$ ($p<0,01$), и $653,4 \times 10^{-8}$ ($p<0,05$) соответственно, поскольку происходило повышение концентрации эритроцитов и гемоглобина. Лейкоцитоз прогрессировал, достигая в 1 группе 9,7 тыс/мкл, а в контрольной – 12,12 тыс/мкл. Произошло перераспределение в лейкограмме. Наблюдалась умеренная эозинопения, за исключением 2 группы, где концентрация эозинофилов достоверно повысилась до 3,6% ($p<0,05$). Количество моноцитов в группах снизилось, причем в 1 группе более, чем в 2 раза. Концентрация лимфоцитов начала возрастать. Отмечалось перераспределение нейтрофилов. В 1 группе концентрация юных форм в этот период не изменялась, уровень палочкоядерных нейтрофилов продолжал повышаться, достигнув 8,6%, а сегментоядерных незначительно снизился (34,6%). В крови животных 2 группы юные нейтрофилы отсутствовали, в то время как уровень палочкоядерных снизился до 8,8%, а сегментоядерных до 32,8% ($p<0,01$). Столь низкий уровень сегментоядерных нейтрофилов (ниже физиологической нормы) больше не регистрировался в течение всего опыта. В группе контроля количество юных форм сохранилось на фоне незначительного повышения уровня палочкоядерных нейтрофилов. Явный сдвиг уровня нейтрофилов влево наблюдался с одновременным интенсивным снижением концентрации сегментоядерных нейтрофилов до 33,9% ($p<0,001$).

На двадцатые сутки эксперимента отмечали стабильное повышение уровня эритроцитов и гемоглобина до физиологической нормы. Однако наиболее низкие показатели наблюдались в группе контроля (6,08 млн/мкл ($p<0,01$)), что на наш взгляд, может говорить об относительном угнетении эритропоэза. СИКК во всех группах достоверно повышался, достигнув предоперационного уровня. Нами так же отмечено незначительное ослабление лейкоцитоза в 1 группе (9,14 тыс/мкл ($p<0,05$)), во 2 до 9,12 тыс/мкл ($p<0,05$), в 3 – 10,26 тыс/мкл ($p<0,05$). Изменялось процентное соотношение клеток в лейкограмме. Лимфоцитоз сохранялся во всех группах, количество незрелых форм нейтрофилов упало до 0,2% в 1 и 3 группах. Уровень палочкоядерных нейтрофилов в 1 группе достиг 9,4% ($p<0,05$), сегментоядерных – 33,5%. Во 2 группе концентрация сегментоядерных нейтрофилов достоверно снизилась до нижней границы нормы (33,8% ($p<0,05$)) за счет уменьшения уровня палочкоядерных (8,0% ($p<0,05$)). В группе контроля перераспределение нейтрофилов сохранялось по-прежнему на высоком уровне, палочкоядерных – 10,2%, сегментоядерных – 34,6%.

К тридцатым суткам эксперимента содержания эритроцитов в крови соответствовало норме. Концентрация лейкоцитов и их соотношение в лейкограмме во всех группах практически восстановилось. При этом в 1 отмечалась лишь незначительная, ослабленная эозинопения (0,6%), в нейтрофильной группе при отсутствии юных клеток, количество палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов стабилизировалось (7,2% ($p<0,01$) и 35,2% ($p<0,05$) соответственно). Во

2 группе уровень лейкоцитов составил 8,84 тыс/мкл ($p < 0,05$), лимфоцитов – 54,7%. Концентрация сегментоядерных нейтрофилов не достигла предоперационного уровня (35,3% ($p < 0,05$)). В это же время количество палочкоядерных нейтрофилов достоверно снизилось до 6,8% ($p < 0,05$), что соответствует норме. В группе контроля сохранялся стабильный лейкоцитоз (9,2 тыс/мкл). Уровень эозинофилов и моноцитов незначительно снизился. При сохраненном уровне юных клеток, количество палочкоядерных нейтрофилов достоверно понизилось до нормы – 7,8% ($p < 0,01$), а сегментоядерных увеличилось, достигнув 35,6%.

Результатами проведенных исследований в целом соответствовали известному мнению (К.С. Десятниченко, 1995, М.А. Дерхо, 2004 и др.) о том, что анемия в ранний посттравматический период связана в большей степени с шоковым состоянием организма. Одновременно отмечено эритроestimлирующее и противовоспалительное влияние иммунокорректоров (на десятые сутки происходило повышение концентрации эритроцитов в 1 группе до 5,86 млн/мкл, во 2 группе до 6,05 млн/мкл, в то время как в 3 группе продолжалось их снижения до 4,78 млн/мкл).

Динамика концентрации интерлейкина-4 (ИЛ-4) в ходе потенцированного остеогенеза (рис. 2). В 1 группе его количество достоверно повышалось в течение первых десяти суток после операции (с 14,82 пг/мл перед операцией до 34,67 ($p < 0,01$) через сутки) и в последующие десять суток до 55,38 пг/мл ($p < 0,01$). На двадцатые сутки опыта его концентрация в крови снизилась до 44,22 пг/мл ($p < 0,05$). В течение последующего времени эта тенденция сохранялась, достигнув на тридцатые сутки 27,34 пг/мл ($p < 0,05$).

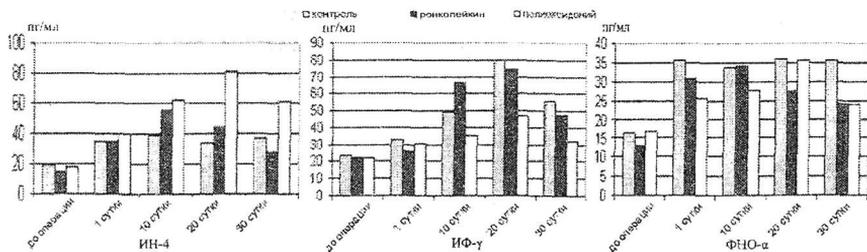


Рис. 2. Динамика концентрации интерлейкина-4, интерферона-γ, фактора некроза опухоли-α.

Во 2 группа отмечалась похожая тенденция, но уровень ИЛ-4 продолжал достоверно повышаться до двадцатых суток эксперимента: с 17,5 пг/мл перед операцией, до 40,14 пг/мл ($p < 0,001$) в первые сутки операции, затем повысилась до 61,96 пг/мл ($p < 0,01$) к десятым суткам, а на двадцатые сутки опыта достиг 80,9 пг/мл ($p < 0,01$). В последние десять суток эксперимента наблюдалось достоверное снижение его концентрации до 61,12 пг/мл ($p < 0,01$).

В контрольной группе концентрация ИЛ-4 в крови достоверно повышалась в первые сутки с 19,22 пг/мл и до 34,62 пг/мл ($p < 0,05$), достигнув через десять суток 39,02 пг/мл ($p < 0,05$). К двадцатым суткам эксперимента наблюдалось незначительное достоверное снижение до 34,16 пг/мл ($p < 0,05$). Однако в последние сроки опыта показатель снова повысился на 2,9 пг/мл.

Проведенный сравнительный анализ показал, что введение в схему послеоперационной терапии ронколейкина и полиоксидония обеспечивало более чем двукратное повышение концентрации провоспалительного цитокина по сравнению с контрольной группой, что способствует созданию на первом этапе благоприятных условий для сокращения сроков консолидации отломков.

Динамика концентрации интерферона- γ (ИФ- γ) в ходе потенцированного остеогенеза (рис. 2). В 1 группе, с начала опыта и до двадцатых суток после операции отмечали стабильный достоверный подъем его концентрации с 22,24 пг/мл до 74,62 пг/мл: в первые сутки после операции до 25,54 пг/мл ($p < 0,05$), в последующие десять суток до 66,46 пг/мл ($p < 0,001$) и далее до 74,62 пг/мл ($p < 0,05$). К тридцатым суткам опыта происходило резкое снижение до 47,38 пг/мл ($p < 0,01$).

Во 2 группе также наблюдалась достоверная положительная динамика роста уровня ИФ- γ в крови в те же сроки, но с более низкими числовыми выражениями: в первые сутки с 22,14 пг/мл до операции до 30,26 пг/мл ($p < 0,01$) через сутки и до 35,08 пг/мл ($p < 0,05$) через десять суток. На двадцатые сутки эксперимента их уровень достоверно повысился до 46,84 пг/мл ($p < 0,01$), а затем началось достоверное снижение до 32,3 пг/мл ($p < 0,01$).

В крови контрольной группы животных изменения в динамике обсуждаемого показателя были аналогичны. В первые сутки послеоперационного периода отмечали достоверное повышение до 33,26 пг/мл ($p < 0,05$), а с десятых по двадцатые сутки эксперимента показатель увеличился с 49,13 до 79,86 пг/мл ($p < 0,001$). На тридцатые сутки опыта концентрация ИФ- γ достоверно снизилась на 24,08 пг/мл ($p < 0,01$).

Таким образом, динамика ИФ- γ подтверждает тесную взаимосвязь его с интерлейкином-2. Изменение его концентрации в крови экспериментальных животных, и в частности в первой группе, доказало способность ронколейкина, усиливая выработку ИФ- γ в раннюю анаболическую фазу, содействовать запуску гуморального и клеточного звеньев иммунитета, что, в свою очередь, благотворно повлияло на активацию составляющих репаративного остеогенеза.

Динамика концентрации фактора некроза опухоли- α (ФНО- α) в ходе потенцированного остеогенеза (рис. 2). В 1 группе отмечалась положительная динамика в катаболической фазе опыта: с 12,9 пг/мл до 30,76 пг/мл ($p < 0,01$) в первые сутки и до 33,92 пг/мл к десятым суткам. Далее происходило плавное снижение его концентрации до конца опыта, достигая к тридцатым суткам 24,18 пг/мл.

Во 2 опытной группе концентрация ФНО- α достоверно повышалась с 16,66 пг/мл перед операцией до 25,6 пг/мл ($p < 0,05$) через сутки и продолжала расти до двадцатых суток, достигнув 35,58 пг/мл ($p < 0,01$). В течение последних десяти суток намечилась явная тенденция к его снижению (23,84 пг/мл ($p < 0,01$)).

В крови кроликов 3 группы через сутки после операции наблюдался резкий скачок концентрации этого цитокина с 16,24 до 35,7 пг/мл ($p < 0,01$). В дальнейшем динамика менялась. Концентрация ФНО- α к десятым суткам незначительно упала до 33,58 пг/мл и после небольшого подъема в ранней анаболической фазе составила к концу опыта 35,54 пг/мл.

Анализ полученных данных подтвердил выраженную терапевтическую эффективность ронколейкина на организацию репаративного остеогенеза. В

частности, в группе, подвергающейся цитокиновой стимуляции, наблюдалось максимальное повышение концентрации ФНО- α в катаболическую фазу, что создало предпосылки в первой группе к успешному и наиболее интенсивному формированию костной мозоли по отношению к другим опытным группам.

Динамика биохимических показателей крови кроликов на фоне оптимизации репаративного остеогенеза (рис.3). Дооперационный уровень макроэлементов в крови не выходил за рамки физиологической нормы. Однако в первые сутки после оперативного вмешательства наблюдалась во всех группах гиперфосфатемия, сопровождающаяся гиперкальциемией. В частности, уровень общего кальция в 1 группе достиг 2,72 ммоль/л ($p<0,05$), неорганического фосфора – 1,14 ммоль/л, концентрация ионизированного кальция – 1,21 ммоль/л ($p<0,05$). Во 2 группе фиксировалось повышение концентрации общего кальция до 2,68 ммоль/л и ионизированного до 1,18 ммоль/л ($p<0,05$). В группе контроля показатели общего кальция и неорганического фосфора через сутки опыта составляла 2,74 ммоль/л и 1,16 ммоль/л соответственно. Уровень ионизированной формы кальция также повышался. Концентрация общего белка в 1 группе в этот период достоверно упала с 62,1 г/л до 58,1 г/л ($p<0,05$). Во 2 группе снижение было менее интенсивным – до 59,6 г/л ($p<0,05$). В 3 группе уровень общего белка понизился с 60,7 г/л до 57,6 г/л ($p<0,05$). Активность щелочной фосфатазы в крови опытных животных сразу после выполнения флекссионного перелома находилась на верхней границе нормы и составила в 1 группе 63 МЕ/л, во 2 – 66 МЕ/л, в группе контроля – 67 МЕ/л, что говорит о том, что травма костной ткани еще не спровоцировала повышение маркера данной патологии. Но уже через сутки после проведения экстернального остеосинтеза мы установили, что активность фосфатазы начала резко нарастать во всех группах. При этом в первой группе она увеличивалась до 78 МЕ/л ($p<0,01$), что являлось ее пиком по этой группе.

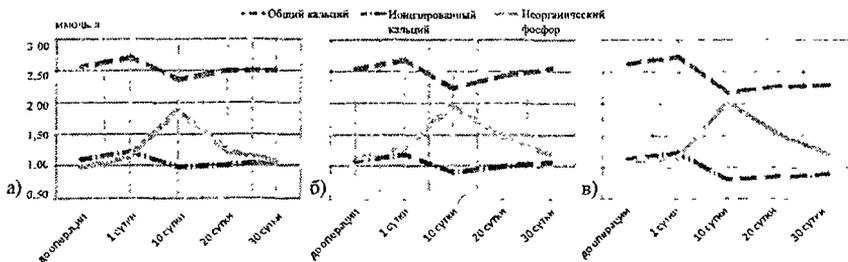


Рис. 3. Динамика макроэлементов в крови кроликов в течение опыта: а) первая группа; б) вторая группа; в) третья группа.

Через десять суток наблюдений тенденция изменилась. В частности, уровень неорганического фосфора продолжал повышаться, достигая пика в 1 группе – 1,87 ммоль/л ($p<0,01$), концентрация общего и ионизированного кальция наоборот, достоверно снизилась до 2,37 ммоль/л ($p<0,01$) и 0,98 ммоль/л ($p<0,01$) соответственно. Прирост концентрации неорганического фосфора во 2 группе

сохранялся до десятых суток (1,96 ммоль/л ($p<0,01$)). В это же время наступала нормокальциемия. В 3 группе на десятые сутки гиперфосфатемия достоверно достигла 2,02 ммоль/л ($p<0,05$), что явилось самым высоким показателем за время опыта во всех группах. Уровень общего кальция в этой группе достоверно упал до 2,18 ммоль/л ($p<0,01$), а ионизированного с 1,23 ммоль/л ($p<0,05$) до 0,82 ммоль/л ($p<0,01$). В этот период во всех группах отмечали подъем концентрации общего белка, причем наиболее интенсивные изменения происходили в группе контроля, достигая к десятым суткам 71,0 г/л ($p<0,01$). В 1 и 2 группах величина общего белка к десятым суткам также достоверно повышалась до 63,20 г/л ($p<0,05$) и 64,30 г/л ($p<0,01$) соответственно. В 1 группе происходило стабильное достоверное уменьшение активности щелочной фосфатазы, достигнув 72 МЕ/л ($p<0,05$). Во второй группе показатель достоверно снизился до 76 МЕ/л ($p<0,05$), а группе контроля активность постепенно возрастала, что составило 89 МЕ/л ($p<0,01$).

На двадцатые сутки эксперимента можно было наблюдать в 1 группе повышение концентрации всех форм кальция, особенно его ионизированной формы (с 0,98 ммоль/л до 1,01 ммоль/л). Концентрация общего кальция в сыворотке крови незначительно увеличилась до 2,51 ммоль/л ($p<0,05$), при достоверном снижении уровня неорганического фосфора до 1,23 ммоль/л ($p<0,05$). В крови животных 2 группы количество общего кальция возросло до 2,42 ммоль/л ($p<0,05$), а ионизированного до 1,0 ммоль/л. Концентрация неорганического фосфора снизилась до 1,47 ммоль/л ($p<0,05$). В контрольной группе было зафиксировано уменьшение концентрации неорганического фосфора и возрастание обеих форм кальция. В 1 группе концентрация общего белка достигла пика на двадцатые сутки эксперимента (66,7 г/л ($p<0,05$)). Во 2 группе динамика изменений этого показателя была аналогичной, достигнув 64,8 г/л. У кроликов группы контроля уровень общего белка достоверно снизился до 68,5 г/л ($p<0,05$). На двадцатые сутки после остеосинтеза в 1 группе активность щелочной фосфатазы достигла 66 МЕ/л ($p<0,05$), во 2 – 69 МЕ/л ($p<0,01$). В 3 группе в этот период наблюдалось резкое достоверное снижение, с 89 МЕ/л до 71 МЕ/л ($p<0,01$).

К концу эксперимента (тридцатые сутки) падение концентрации неорганического фосфора в 1 группе продолжалось, достигнув 1,07 ммоль/л ($p<0,05$). Плавное повышение концентрации общего кальция сопровождалось аналогичным приростом его ионизированной формы до 2,52 ммоль/л и 1,06 ммоль/л соответственно. Количество общего белка достоверно упало до 63,3 г/л ($p<0,05$), что соответствовало дооперационному уровню. Активность щелочной фосфатазы составила 54 МЕ/л ($p<0,01$). Уменьшение концентрации неорганического фосфора во 2 группе продолжалось до тридцатых суток, достигнув 1,18 ммоль/л. Уровень общего белка снизился до 64,1 г/л, активность щелочной фосфатазы – 56 МЕ/л ($p<0,01$). В 3 группе количество неорганического фосфора упало до 1,22 ммоль/л, а общего кальция наоборот повысилось до 2,29 ммоль/л. Концентрация ионизированного кальция достоверно продолжала возрастать, достигнув 0,91 ммоль/л ($p<0,05$). Количество общего белка находилось в пределах физиологической нормы. При этом продолжалось достоверное снижение активности щелочной фосфатазы с 71 МЕ/л до 65 МЕ/л ($p<0,05$).

Анализ наиболее информативных биохимических маркеров остеосинтеза показал позитивное влияние цитокиновой иммунокоррекции, заключающееся в раннем создании предпосылок к формированию костного регенерата в катаболическую фазу травматической болезни, что проявлялось нормализацией активности щелочной фосфатазы и понижением концентрации неорганического фосфора на двадцатые сутки эксперимента, а также повышением уровня кальция к окончанию эксперимента.

Оценка потенцированного ронколейкином остеогенеза спонтанно травмированных собак с переломами длинных трубчатых костей в условиях внешней фиксации аппаратами стержневого типа.

За период с 2003 по 2006 гг. в клинику было доставлено 212 животных с различными переломами трубчатых костей. Из них 58,5% составили собаки (124 головы), 38,2% кошки (81 голова), 3,3% птицы (7 голов).

Поступавших в клинику собак с данной патологией подвергали общеклиническому ветеринарному осмотру. В частности, проводили сбор анамнеза, общие, специальные, дополнительные исследования пациента. Особое внимание при этом обращали на тип хромоты при движении, нарушение конфигурации травмированной конечности, наличие боли, крепитации, отечности, гипертермии, гиперемии в зоне нарушения целостности костной ткани. После получения рентгенограмм поврежденной конечности уточняли вид и характер перелома.

Все пациенты проходили рентгенологическое обследование травмированной конечности в день обращения за помощью, после установки аппарата внешней фиксации, в течение реконструктивно-восстановительного периода, до и после демонтажа конструкции.

При проведении остеосинтеза нами были использованы многофункциональные аппараты внешней фиксации стержневого типа состоящими из остеофиксаторов (ЦИТО, г. Москва) и деталей от аппарата Г.И. Илизарова. Выбор диаметра остеофиксаторов зависел от сложности перелома и живой массы собак. Диаметр остеофиксаторов не превышал 20% от диаметра кости; количество зависело от сложности перелома и длины отломков. При их проведение придерживались «безопасных коридоров» (В.В. Анников, 2006) с учетом анатомических особенностей поврежденного сегмента (Н.А. Слесаренко, 1996). Независимо от вида сегмента и зоны введения остеофиксаторы располагали под углом в 30-45° друг к другу в сагиттальной плоскости.

Лечение собак с переломами плечевой кости. В течение трех лет в клинику было доставлено 33 собаки с переломами плечевой кости. Локализация и тяжесть перелома, срок давности были различны, однако преобладали свежие, закрытые переломы диафизарного сегмента кости типов А и В. При переломах проксимального или дистального сегментов кости наиболее распространенным оказался тип А.

В большинстве случаев оказание лечебной помощи при переломах костей предплечья включало проведение внеочагового остеосинтеза монополярным, реже биполярным стержневыми аппаратами.

В течение всего периода репаративной регенерации костных структур

проводилась иммунокоррекция ронколейкином в дозе 20000 ЕД/кг живой массы подкожно на 1; 3; 5; 7 сутки терапии. Дважды в день владельцы санировали зоны установки остеофиксаторов 1% раствором диоксидина. Все животные подвергались антибиотикотерапии (синулокс, цефазолин, линкомицин и др. в стандартной дозе).

Рентгенологические исследования позволяли нам контролировать качество остеосинтеза. У прооперированных животных отмечалась правильная репозиция отломков с минимальным диастазом и сохранением оси кости. Через две недели, несмотря на периостальную реакцию, в зоне остеоклазии наблюдалось начало формирования костной мозоли. На рентгенограммах, выполненных на тридцатые сутки конструктивно-восстановительного периода, можно было видеть равномерную тень мозоли, начинающую заполнять диастаз от центра к периферии, при отсутствии воспаления надкостницы. Через 45 суток регенерация костной ткани находилась в стадии завершения, кортикальный слой в зоне нарушения не отличался по плотности от соседних.

Период стабильной фиксации составил восемь-десять недель. Опороспособность на травмированную конечность восстановилась, собаки активно двигались, хромота отсутствовала. Рентгенологическое исследование подтвердило восстановление костной ткани. К моменту демонтажа аппарата анатомо-функциональная оценка составила 75-85 баллов.

Лечение собак с переломами костей предплечья. Собаки с переломами костей предплечья встречались реже. Локализация и сложность данных фрактур костей предплечья варьировали, однако чаще травмировались обе кости. Решение о конфигурации аппарата зависело от типа перелома, тем не менее, жесткой фиксации обычно подвергалась только лучевая кость, поскольку в области проксимального и дистального метафизов она жестко соединена с локтевой за счет синостозов.

Наиболее упрощенной формой аппарата явилась монополярная конструкция, используемая чаще при простых переломах средней трети диафиза.

Собаки подвергались стандартной превентивной терапии и стимуляции остеогенеза ронколейкином по выше указанной схеме.

Положительная динамика фиксировалась на протяжении всего реконструктивно-восстановительного периода. Так, болезненность в зоне перелома исчезала к двенадцатым суткам после остеосинтеза, а хромота – на двадцатые. Рентгенологические исследования, проводившиеся в этот период, подтверждали активное формирование регенерата, которое завершилось к шестой-седьмой неделе. Такой короткий срок костеобразования, на наш взгляд, свидетельствует как о высоком регенеративном потенциале костной ткани костей предплечья в условиях жесткой стабильной фиксации, так и о направленно стимулированном репаративном остеогенезе травматологически больных животных.

На момент демонтажа мегаллоконструкции на контрольных рентгеновских снимках травмированных костей отмечали естественное взаиморасположение костных фрагментов. Диастаз был заполнен новообразованной костной тканью, однородной по структуре и соответствующей по диаметру кости с непрерывной кортикальной пластинкой.

Функционально-анатомический результат отличный (85-100 баллов).

Лечение собак с переломами бедренной кости. Переломы бедренной кости наиболее часто встречались у животных весом свыше 15 кг и являлись следствием несчастных случаев (автотравмы, драки). Более распространенными являлись травмы диафиза, при этом приоритета в типе переломов не отмечалось.

Основным типом аппаратов внешней фиксации при переломах бедренной кости являлась биполярная многостержневая конструкция. Комплексная послеоперационная терапия была аналогичной вышеописанной. Качество послеоперационного репаративного остеогенеза оценивалось рентгенологически.

В течение первых десяти суток наблюдения у собак отмечали хромоту висячей конечности. При осмотре бедра наблюдалась значительная отечность, местная гипертермия и болезненность при пальпации.

На тридцатые сутки животные свободно передвигались. Болезненность выявлялась только при перкуссии непосредственно в зоне нарушения целостности кости у 63,9% собак. Костный регенерат на рентгенограммах был однороден по структуре и сливался по плотности с прилежащими материнскими отделами кости. Однако кортикальный слой был неоднородным, из-за продолжающейся периостальной реакции. Остеогенез находился в завершающей стадии.

На рентгенограмме, выполненной на 45 сутки, мы наблюдали интенсивную динамику формирования костной мозоли, что позволило принять решение о демонтаже аппарата.

Функционально-анатомический результат лечения больных с переломами бедренных костей оценивался от удовлетворительного до хорошего (50-80 баллов).

Лечение собак с переломами костей голени. У поступавших в клинику пациентов диагностировались переломы костей голени на различных уровнях с преобладанием локализации в средней трети диафиза. После проведения остеосинтеза исследования подтверждали правильную репозицию отломков большеберцовой кости с минимальным диастазом у прооперированных животных.

У таких пациентов фиксировали хромоту опирающей конечности, отек до трех суток. Незначительная болезненность в непосредственной зоне перелома костей отмечалась в первую неделю послеоперационного периода.

Контрольная рентгенограмма на четырнадцатые сутки подтвердила активный остеогенез, при этом уплотнение в зоне перелома сосредотачивалось в 98,7% в центральной части кости (эндостальное сращение), что, с нашей точки зрения, являлось положительным моментом.

Через тридцать суток проведенное контрольное рентгенологическое исследование позволило констатировать факт полного формирования костной мозоли. Она была однородна по структуре, сливалась по плотности с прилежащими материнскими отделами, соответствуя диаметру кости в зоне разрушения.

Функционально-анатомическая результат соответствовал оценке отлично (90-100 баллов).

Лечение собак с осложненными переломами трубчатых костей. К малочисленной группе больных относились собаки с переломами, осложненными остеомиелитом и псевдоартрозами. Их возникновение связано либо с ошибками, допущенными в технике операции, либо они явились следствием запоздалого обращения в ветеринарную клинику.

Тактика лечебной помощи собакам с переломами, осложненными остеомиелитами, включало устранение причины их появления и дополнительные меры для купирования процесса. В частности, массивную антибиотикотерапию, интенсивную санацию мест введения стержней, иногда дренирование зоны воспаления.

У пациентов с псевдоартрозами проводили красную остеотомию долотом, восстанавливали биологическую ось нагрузки, после чего проводили остеофиксаторы в кортикальные пластины и монтировали аппарат. Иногда, перед этим дополнительно проводили в костномозговой канал спицу Киршнера.

Все животные подвергались цитокиновой стимуляции, при этом доза повышалась до 30000-50000 МЕ/кг живой массы тела.

Решение о демонтаже аппарата принимали в зависимости от качества костного регенерата, контролируя его путем рентгенологических исследований.

Функционально-анагномическая результат лечения оценивался как удовлетворительный, реже хороший (40-75 баллов).

Экономическая эффективность применения ронколейкина при лечении травматологически больных пациентов. В ветеринарии важнейшим критерием оценки лечебных мероприятий при любых болезнях является их экономическая эффективность.

Главным показателем, определяющим экономическую эффективность таких мероприятий является комплекс затрат, включающий стоимость препаратов и оплату труда ветеринарного специалиста.

Общая сумма себестоимости ветеринарных мероприятий, проведенных в 1 группе (ронколейкин), составляет 2616 руб, а во 2 группе (полиоксидоний) – 2700 руб.

Экономическая эффективность ветеринарных мероприятий в 1 группе составила 4584 руб, во 2 – 4500 руб.

Экономическая эффективность ветеринарных мероприятий на рубль затрат составила: в 1 группе – 1,75 руб., во 2 группе – 1,7 руб.

Таким образом, предлагаемый способ комплексного лечения пациентов со свежими переломами костей и с осложненными переломами с использованием рекомбинантного интерлейкина-2 является экономически выгодным по отношению к полиоксидонию.

Ошибки и осложнения при лечении спонтанно травмированных собак. Отработанная методика проведения экстерального остеосинтеза с учетом «безопасных коридоров» позволила избежать значительного количества осложнений при проведении операции. Тем не менее, во время лечения собак с переломами длинных трубчатых костей были отмечены некоторые осложнения.

Среди них, к не хирургическим относились переломы остеофиксаторов. К хирургическим – их расшатывание и кровотечение из под них. Перелом остеофиксатора в зоне резьбы (1 собака) мы связываем с его некачественным изготовлением. Расшатывание остеофиксатора (3 собаки) произошло из-за воспаления кости вследствие ее «металлоза».

У 4 собак было зафиксировано кровотечение из канала введения стержня в костную ткань, что объясняется неизбежным травмированием мелких сосудов при проведении остеофиксаторов через мягкие ткани.

Кроме того, у 6 собак были замечены нагноение швов и воспаление мягких тканей в зоне введения стержней. С нашей точки зрения, это происходило вследствие скудного санирования ран.

Таким образом, во время проведения комплексного лечения животных с травмами костной ткани нами был отмечен ряд недостатков, встречающихся при проведении остеосинтеза, проведен анализ данных ошибок и осложнений и приняты меры для их ликвидации, что позволило в дальнейшем их избежать.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что ронколейкин и полиоксидоний оказывают иммуномодулирующее действие, активируя как клеточное, так и гуморальное звено иммунитета.

Полиоксидоний в большей степени стимулирует клеточное звено иммунного ответа. Мы установили, что ронколейкин в большей степени оказывал влияние на гуморальное звено иммунитета, увеличивая концентрацию интерлейкина-4 активирует В-лимфоциты, а также подавляет освобождение цитокинов воспаления (ФНО- α , ИЛ-1).

Стойкое снижение или повышение в кровотоке всей группы данных регуляторных молекул (выход за допустимые пороговые значения) связано с развитием патологического процесса. Таким образом, цитокиновая стимуляция явилась важным фактором в развитии иммунной реакции, кроме того исследуя дополнительно цитокиновый профиль, можно было проследить позитивное влияние препаратов на течение травматической болезни в параллели с биохимическими и гематологическими показателями.

Процесс срочной адаптации сопровождался лейкоцитозом, в лейкограмме происходил сдвиг нейтрофилов влево за счет снижения сегментоядерных и повышения незрелых форм нейтрофилов (юных, палочкоядерных). Кроме того увеличивалась концентрация моноцитов, эозинофилов и наблюдалась базо- и лимфоцитопения. Изменения лейкограммы, характерные для катаболической фазы, связаны с возрастанием количества клеток крови, участвующих в фагоцитозе (Л.Д. Лиознер, 1982). В этот период лейкограмма кроликов контрольной группы имела мало отличий от групп, проходящих иммунокоррекцию.

Изменение функциональной активности эритроцитов проявлялось в повышении скорости их оседания, количественным снижением гемоглобина. Системный индекс красной крови соответственно в этот период также понижался.

Отличительной чертой анаболической фазы являлось нормализация количества лейкоцитов. При этом в 1 и 2 группах соотношение палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов нормализовалось, а в контрольной сохранялось повышенное содержание юных и палочкоядерных нейтрофилов.

Скорость оседания эритроцитов и системный индекс красной крови стабилизировались у животных всех трех групп к 14-20 суткам эксперимента и сохранялись таковыми до клинического выздоровления.

В эксперименте можно было наблюдать классические биохимические процессы, соответствующие основным этапам развития костной мозоли (Л.И. Слущкий, 1977). В фазу восстановления органического матрикса фиксировался подъем уровня кальция, фосфора и активности щелочной фосфатазы, что более отчетливо проявилось в I группе. Это связано с повышенной интенсивностью минерального обмена в травмированной костной ткани.

Фаза минерализации основы костной ткани сопровождалась отрицательной корреляцией между уровнем общего белка и активностью щелочной фосфатазы. Концентрация общего кальция в период обездвиживания костной мозоли начинала снова расти, что было особо выражено в I группе.

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что изучаемые препараты обладают иммуномодулирующей активностью, проявляющейся в повышении общей активности гуморального и клеточного звеньев иммунитета и следовательно, повышают сопротивляемость организма при травме, что способствует более быстрому выздоровлению.

В результате клинических наблюдений было выявлено погеницирующее влияние цитокиновой оптимизации на формирующийся в зоне нарушения костной ткани регенерат, которое проявилось сохранением опороспособности или восстановлением ее в короткие сроки, укороченными сроками консолидации отломков, отсутствием осложнений в течение восстановительного периода.

При дешифровке рентгенограмм мы наблюдали формирование однородной костной мозоли, начиная с пяти-девяти суточного периода. Позитивные рентгенологические изменения в зоне индуцированного остеогенеза проявлялись равномерным заполнением диастаза новообразованной костной тканью, которая преобладала сначала в центральной части, а к 40-50 суткам распространяясь по направлению к периферии.

Выполненные диссертационные исследования являются новым научным подходом в решении проблемы лечения животных с повреждениями трубчатых костей. Использование при такой патологии иммунокоррекции в течение травматической болезни позволяет позитивно влиять на репаративный остеогенез.

Полученные результаты дают нам основание сделать определенные выводы и дать практические рекомендации ветеринарным специалистам, занимающимся вопросами остеорепарации.

ВЫВОДЫ

1. На основании клинико-рентгенологических и морфологических данных доказана высокая терапевтическая эффективность использования рекомбинантного интерлейкина-2 человека при лечении собак с переломами трубчатых костей. Наряду с обеспечением стабильной жесткой фиксации на протяжении всего периода лечения данный метод позволяет сократить сроки консолидации отломков в среднем на семь суток.

2. Повышение функциональной активности эритроцитов и появление новых пулов красных кровяных клеток у первой группы животных проявилось в минимальном снижении количества эритроцитов в первые десять суток в послеоперационный период (до 5,86 млн/ мкл против 4,78 млн/мкл в группе контроля). В ранней анаболической фазе, в группе, подвергшейся воздействию ронколейкина число эритроцитов достигло 6,42 млн/мкл, а в контрольной – 6,08 млн/мкл, что подтверждает эритропоэтическую активность рекомбинантного интерлейкина-2 человека.

3. Появление в лейкограмме незрелых форм нейтрофилов сразу после операции свидетельствует о тяжести костной патологии, а нормализация соотношений различных форм нейтрофилов в группе, где использовался ронколейкин, к тридцатым суткам доказывает его противовоспалительную активность.

4. Снижение уровня провоспалительного (интерлейкина-4) цитокина в первой группе в более ранние сроки в сравнении со второй (44,22 пг/мл и 80,90 пг/мл соответственно), значительно более ранняя нормализация уровня фактора некроза опухоли- α (1 группа – 27,28 пг/мл, 2 группа – 35,58 пг/мл) и более медленное понижение (до тридцатых суток) интерферона- γ в первой группе по отношению ко второй (47,38 пг/мл и 32,30 пг/мл) являются доказательством высокого иммуномодулирующего влияния рекомбинантного интерлейкина-2 человека.

5. Нормализация содержания основных макроэлементов (общий и ионизированный кальций, неорганический фосфор) в крови кроликов первой группы в более ранние сроки, против второй группы, а также интенсивное снижение активности щелочной фосфатазы свидетельствуют о долгосрочной активации остеобластов и ускоренной минерализации костного матрикса.

6. Теоретически обоснованная и практически апробированная методика цитокиновой оптимизации репаративного остеогенеза в условиях внешней фиксации позволила в 96% случаях добиться положительных результатов. В частности, в 1,4 раза сократить сроки консолидации отломков.

7. Экономическая эффективность ветеринарных мероприятий (1,75 руб.) при лечении спонтанно травмированных собак позволяет рекомендовать данную методику стимуляции репаративного остеогенеза в практику ветеринарной хирургии.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. При лечении пациентов с переломами трубчатых костей рекомендуется в комплексную терапию включать ронколейкин для коррекции посттравматического иммунодефицита в послеоперационный период.

2. В реабилитационный период следует проводить комплексную оценку динамики гематологических и биохимических показателей, иммунологического статуса больного для прогнозирования течения репаративного остеогенеза и контроля проводимого лечения.

3. Ронколейкин следует вводить подкожно в дозе 20000 ЕД/кг живой массы на 1; 3; 5; 7 сутки после проведения остеосинтеза.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Гессе И.Ю. Особенности фиксации при переломах предплечья у собак и кошек / И.Ю. Гессе, В.В. Анников // Ветеринария Поволжья. – 2004. – № 2 (8). – С. 33-34.
2. Гессе И.Ю. Изменение клеточного иммунитета в процессе цитокиновой оптимизации репаративного остеогенеза / И.Ю. Гессе, В.В. Анников, К.К. Левченко // Ветеринарная медицина. Современные проблемы и перспективы развития: Матер. – Саратов, 2005. – С. 17-19.
3. Гессе И.Ю. Влияние генно-инженерного цитокина на репаративный остеогенез при экспериментальных переломах голени у кроликов / И.Ю. Гессе, В.В. Анников, Л.В. Анникова, М.А. Кучерявенков // Ветеринарная медицина. Современные проблемы и перспективы развития: Матер. – Саратов, 2005. – С. 24-27.
4. Гессе И.Ю. Иммуноморфологические аспекты оптимизации репаративного остеогенеза кроликов в условиях внешней фиксации аппаратами стержневого типа / И.Ю. Гессе // Живые системы: Тез. докл. – Киров, 2005. – С. 61-63.
5. Гессе И.Ю. Предварительные результаты цитокиновой оптимизации репаративного остеогенеза при переломах трубчатых костей / И.Ю. Гессе, В.М.Скоряков, В.В. Анников // Междунар. ветеринар. конгр, 14-й: Матер. – М., 2006. – С. 90-91.
6. Гессе И.Ю. Теоретические предпосылки к применению ронколейкина в ветеринарии / И.Ю. Гессе, В.В.Анников // Ветеринарная медицина домашних животных. – Казань, 2006. – С.40-43.
7. Гессе И.Ю. Динамика иммуноморфологических показателей при различных способах оптимизации остеогенеза в условии экстерналино-стержневой фиксации / И.Ю. Гессе // Вавиловские чтения: Матер. – Саратов, 2006. – С. 14-17.
8. Гессе И.Ю. Особенности внешней стержневой фиксации при переломах в области средней трети диафиза трубчатых костей у собак / И.Ю. Гессе // Науч.-исслед. и производ. конф: Матер. – Саратов, 2007. – С. 8-10.
9. Гессе И.Ю. Экспериментальные данные остеиндуцирующего влияния рекомбинантного интерлейкина-2 человека у кроликов / И.Ю. Гессе // Вестник Саратовского госагроуниверситета им. Н.И. Вавилова. – 2007. – № 4. – С. 5-7.

Подписано в печать 19.11.2008. Гарнитура Таймс
Формат 60 x 84 1/16. Бумага офсетная. Печать Riso
Усл. печ. л. 1,00. Тираж 100 экз. Заказ 0418.

Отпечатано с готового оригинал-макета
410005, Саратов; Пугачевская, 161, офис 320 ☎ 27-26-93