



**UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ  
CLUJ-NAPOCA  
ȘCOALA DOCTORALĂ  
FACULTATEA DE MEDICINĂ VETERINARĂ**

**Dr. CRECAN CRISTIAN MIHĂIȚĂ**

# **REZUMAT AL TEZEI DE DOCTORAT**

## **CONTRIBUȚII ÎN DIAGNOSTICUL ȘI TRATAMENTUL OSTEOCONDRIȚII DISECANTE LA CABALINE**

**CONDUCĂTOR ȘTIINȚIFIC  
Prof. Univ. Dr. Liviu Ioan OANA**

**CLUJ-NAPOCA  
2015**

## REZUMAT

Vindecarea leziunilor cartilajului articular reprezintă un proces îndelungat ce se realizează cu eforturi din partea organismului, deoarece lipsa de vascularizație și tipul particular de hrănire, prin imbibiție fac ca această componentă importantă a articulațiilor sinoviale să fie unul dintre cele mai dificile țesuturi ale organismului (McIlwraith C.W., 1996). Cartilajul articular este țesutul ce reprezintă cheia funcțională a articulațiilor sinoviale (Nixon A.J.,2002). Grosimea, densitatea celulară și compoziția matricei, variază atât între diferitele articulații cât și în cadrul aceluiași tip de articulație (Bruckner, P.,1988). Toate articulațiile sinoviale conțin cartilaj articular alcătuit din aceleași componente îndeplinind același rol (Stowater, J.L.,1986). Proprietățile care îl fac remarcabil și unic sunt rezistența sa deosebită la presiune, marea rezistență la uzură și capacitatea de a distribui presiunea atât pe suprafață cât și pe o mai mare arie a osului subcondral (Buckwalter J. A., 1995). Niciunui material sintetic nu i s-au putut conferi aceste proprietăți pe o perioadă atât de lungă de timp (Ortved K., 2009). Osteocondrita disecantă (OCD) reprezintă una dintre cele mai importante afecțiuni ortopedice la cabaline indiferent de rasă. Termenul de osteocondroză disecantă a fost introdus de König în 1887 și era utilizat pentru a descrie organismele slăbite sau slăbirea articulațiilor la indivizii tineri( Jörg Auer, John Stick., 2006). Aceasta este o afecțiune caracterizată de o dereglare a proceselor fiziologice de osificare encondrală de la nivelul complexului articulație-epifiză-cartilaj (AECC) în perioada de creștere, rezultând fragmente libere de cartilaj în interiorul articulației în urma actului locomoției (Jeffcott 1998; van de Lest et al.1999;Olsson SE, 1974).

Lucrarea de față este structurată în două părți, prima parte intitulată *Studiu bibliografic* și cuprinde 43 de pagini, iar partea a doua , intitulată *Cercetări proprii* conține 113 pagini. Acest studiu cuprinde în totalitate 68 de figuri și 49 de tabele.

Primul **Capitol I** intitulat "*Cercetări bibliografice*" reflectă stadiul actual al cunoașterii și se împarte în 8 subcapitole.

Primul subcapitol face o scurtă introducere amintind câteva aspecte ale vindecării cartilajului articular și definește pe scurt *osteocondrita disecantă*.

Al doilea subcapitol descrie structura funcțională, compoziția histologică a cartilajului articular precum și modul de transmitere a forțelor la nivel articular.

Al treilea subcapitol prezintă amănunțit procesele de osificare encondrală, amintind etapele în care apar perturbări în acest proces și factorii endocrini care reglează activitatea de angio și codrogenază. Acest subcapitol mai abordează și canalele cartilaginoase amintind formarea, localizarea și funcția lor la nivel articular ilustrându-le în scheme și secțiuni histologice.

Al partrulea subcapitol este destinat prezentării factorilor care favorizează apariția leziunilor de OCD, abordându-se dezvoltarea rapidă a sistemului musculoscheletal sub influența diferiților factori endocrini. Alte aspecte abordate în descrierea apariției OCD sunt următoarele: influența de ordin ereditar, influența caracteristicilor anatomice, modul de acțiune al efortului fizic în apariția afecțiunii, rolul factorilor traumatici în incidența

afecțiunii, importanța rasei în dezvoltarea bolii, influența factorilor dietetici și efectul deficitului de vascularizație.

Al cincelea subcapitol abordează patogeneza OCD focusând pe mecanismul molecular al osteocondrozei care reprezintă în momentul de față una dintre cele mai investigate teme.

Al șaselea subcapitol descrie modul de evaluare a leziunilor cartilajului articular, atât macroscopic cât și microscopic, ținând cont de mai multe sisteme de notare a degenerării cartilajului, larg utilizate pe plan mondial.

Al șaptelea subcapitol este destinat descrierii metodelor de diagnostic ce pot fi utilizate în OCD abordându-se: examenul radiologic, examenul ecografic, examenul prin intermediul senzorilor inerțiali și artroscopia atât cu scop de diagnostic cât și terapeutic. Ultimul subcapitol al părții generale descrie câteva posibilitățile terapeutice utilizate în terapia OCD și anume: utilizarea acidului hialuronic, a corticosteroizilor și a celulelor stem.

Partea a doua a tezei este destinată cercetărilor proprii și cuprinde patru capitole. În această parte sunt specificate obiectivele tezei, materialele și metodele utilizate în studiu, rezultatele obținute și concluziile aferente.

În **Capitolul II** intitulat "*Stabilirea gradului de șchiopătură la cabaline prin utilizarea unor dispozitive wireless*" este prezentat un studiu efectuat pe cabaline ce prezentau diferite grade de șchiopătură. Scopul și obiectivele cercetărilor propuse în acest capitol au fost: Realizarea unui dispozitiv original care captează și transmite spre procesare modificările mecanodinamicii locomotorii la cabaline, realizarea unui program informatic care procesează și ilustrează grafic dinamica locomotorie la cal, stabilirea sensibilității dispozitivului creat spre identificarea gradului de șchiopătură.

## MATERIALE ȘI METODE

Au fost supuși studiului, cu acordul proprietarilor, un număr de zece cai de vârste și rase diferite care manifestau șchiopătură de diferite grade. Cinci dintre cai șchiopătau la unul dintre membrele anterioare iar ceilalți cinci la unul dintre membrele posterioare. Toți cei 10 cai din studiu au fost examinați pe rând, de trei veterinari cu experiență în vederea stabilirii gradului de șchiopătură, la fiecare cal aceștia acordând același grad. Evaluarea s-a făcut ținându-se cont de cele cinci grade de șchiopătură admise de Asociația Medicilor Americani Practicieni pe Ecvine. Următoarea etapă a fost reprezentată de aplicarea celor patru dispozitive Lameness Detector 0.1 pe fața anterioară a chișiței membrului cu o banderolă smartphone.

Toți caii au fost examinați la pas, 5 pași consecutivi captându-se la toate membrele sub forma unui grafic, dinamica în mișcare a accelerometrului pentru fiecare pas în parte (pe cele trei axe). Separat într-un document excel au fost înregistrate valorile accelerației în  $m/s^2$ , iar pe fondul graficului de mișcare au fost identificați pașii cu valorile de start și de sfârșit ale acestora. Aceste valori au fost căutate și extrase din documentul Excel corespunzător membrului studiat cuantificându-se toate datele trimise de senzor de la

începutul până la sfârșitul fiecărui pas. Datele astfel obținute au fost prelucrate statistic urmărindu-se: numărul impulsurilor trimise de fiecare senzor și reprezentate grafic pe fiecare axă în timpul unui singur pas, media impulsurilor trimise de senzor în timpul efectuării a cinci pași consecutivi, media valorilor accelerației de pe fiecare axă pentru fiecare pas atât la membrul șchiop cât și la cel contralateral (sănătos). Analiza rezultatelor s-a realizat prin compararea mediilor impulsurilor trimise de senzori pe toate cele trei axe pentru pașii efectuați cu membrul șchiop și apoi cu membrul martor (contralateral).

Deasemenea au fost comparate mediile accelerației pe cele trei axe la toți pașii membrului șchiop cu mediile obținute la membrul contralateral (martor).

## REZULTATE ȘI DISCUȚII

Evaluarea șchiopăturii reprezintă o temă de interes internațional și are la bază numeroase abordări ale utilizării senzorilor inerțiali. În urma prelucrării impulsurilor trimise de senzor se poate afirma faptul că numărul acestora crește direct proporțional cu gradul șchiopăturii, creșterea cea mai relevantă văzându-se pe axa X, deoarece aceasta este axa ce înregistrează impulsurile din faza de înaintarea a pasului (de plutire). Acest aspect este valabil în cazul ambelor trenuri (anterior și posterior), bineînțeles cu înregistrarea de modificări și pe celelalte axe, cum ar fi modificări pe axa Z care cuantifică mișcările de lateralitate ale membrului șchiop față de cel sănătos (contralateral), crescând numărul impulsurilor odată cu creșterea gradului șchiopăturii.

Considerăm că datorită ezitării pacientului de a pune pe sol membrul afectat se produc devieri față de planul median al membrului (lateral și medial) care sunt înregistrate de senzor pe axa Z. Axa Y este axa ce captează impulsurile la începutul și la sfârșitul pasului, iar numărul impulsurilor stocate diferă la membrul șchiop față de martor, datorită durerii amplitudinea pasului este mai mică (își ridică membrul afectat mai puțin decât membrul contralateral) și atrage după sine un număr mai mic de impulsuri reprezentate pe axa Y. Keegan, K.G. și col. (2011) au studiat și validat un dispozitiv de detectare a șchiopăturii denumit Lameness Locator, iar parametrii măsoarați în conformitate cu mișcarea trenurilor anterior și posterior au fost selectați pentru analize mai amănunțite (PMA, PDMax, PDMin). Între dispozitivul nostru și Lameness Locator există variate diferențe. Lameness Locator prezintă 3 senzori reprezentați de 2 accelerometre și un giroscop, accelerometrele fiind fixate pe capul și pelvisul animalului iar giroscopul pe membrul anterior/posterior drept. Accelerometrele au rolul de a măsura accelerația trunchiului în plan vertical, iar giroscopul este responsabil cu detectarea asimetriei dintre membrul șchiop și cel contralateral. Accelerația trunchiului este convertită în poziție, iar semnalul poziției este apoi descompus în componente armonice și aleatorii de mișcare (Al Abidi., 2012).

Lameness Detector 0.1. beneficiază de 4 senzori gravitaționali care înregistrează accelerația membrului la fiecare pas și emite un număr de impulsuri pe toată durata acestuia cu privire la poziția membrului pe cele 3 axe X,Y,Z. Atât valoarea accelerației cât și numărul de impulsuri au rol în cuantificarea timpului scurs la efectuarea fiecărui pas. Transformarea acestor valori în grade de șchiopătură și interpretarea mișcărilor

efectuate de membrul afectat în comparație cu membrul congener este o altă diferență. Lameness Detector 0.1. permite evaluarea șchiopăturii în același timp la toate cele 4 membre. În funcție de numărul impulsurilor transmise, acest dispozitiv are capacitatea de a stabili și gradul șchiopăturii. S-a observat faptul că linia dinamicii locomotorii la ambele trenuri a fost uniformă la martor în timp ce la membrul șchiop și a variat mult în ceea ce privește numărul de impulsuri transmise software-ului. În urma efectuării testului T între membrul șchiop și membrul martor contralateral au fost înregistrate valori semnificative din punct de vedere statistic ( $P > 0,05$ ) atât în ceea ce privește valorile individuale ale fiecărui pas, cât și în cazul mediei acestora la cinci pași. În urma prelucrării mediei valorilor accelerației gravitaționale s-au obținut valori semnificative statistic la toate axele, fiind reprezentative pentru toate gradele de șchiopătură.

Deasemenea în urma prelucrării mediilor impulsurilor transmise s-au constatat valori semnificative din punct de vedere statistic în cazul tuturor gradelor de șchiopătură. Un studiu realizat pe 17 cai în vederea evaluării gradului de șchiopătură înainte și după testele de flexie la membrele posterioare a demonstrat că schimbările mișcărilor pelvice măsurate obiectiv utilizându-se un sistem wireless pe baza de senzori inerțiali (Marshall et al., 2012). Într-un alt studiu efectuat pe 15 cai dispozitivul Lameness Locator s-a arătat a fi mai eficient în diagnosticul șchiopăturii comparativ cu examenul clasic a 3 veterinari (McCracken et al., 2012). Explicația ar fi dată de frecvența de percepție a ochiului uman care este cuprinsă între 15-20 Hz comparativ cu sensibilitatea dispozitivului de 200 Hz (Sweet, 1953).

După modelul studiului efectuat de McCracken și col. 2012 în capitolul de față s-a realizat o comparație între precizia dispozitivului Lameness Detector 0.1. de a depista șchiopătura și examenul clasic efectuat de 3 medici veterinari cu experiență.

## CONCLUZII PARȚIALE

- Dispozitivul Lameness Detector 0.1 reprezintă un instrument de precizie în evaluarea șchiopăturilor la cabaline, rezultatele obținute de noi fiind comparabile cu cele din literatura de specialitate.
- Media impulsurilor pe cele 3 axe reprezintă un element sigur de evaluat în vederea stabilirii gradului de șchiopătură.
- Mediile accelerației pe cele 3 axe reprezintă deasemenea elemente relevante în stabilirea gradului de șchiopătură.
- Axa X este cea mai relevantă în graficul afișat de softwareul Lameness Detector 0.1., deoarece aceasta este axa ce înregistrează impulsurile din faza de înaintarea a pasului (de plutire).
- Rezultatele obținute sunt încurajatoare pentru standardizarea dispozitivului în procesul de evaluare a șchiopăturii la cabaline.

În **Capitolul III** intitulat "*Evaluarea unor metode de diagnostic și tratament în osteocondrita disecantă a articulației jaretului la cabaline*", se cuantifică acuratețea dispozitivului construit de noi în stabilirea gradului de șchiopătură, provenită dintr-o anumită articulație afectată de OCD. Scopul și obiectivele cercetărilor întreprinse în acest capitol urmăresc: Investigarea cu dispozitivul LAMENESS DETECTOR 0.1 a diferitelor grade de șchiopătură ale articulației jaretului, evaluarea eficienței artroscopiei ca terapie în osteocondrita disecantă a articulației jaretului, stabilirea unei conexiuni între dimensiunea fragmentelor condrale extrase prin artroscopie și evoluția competițională postoperatorie.

## MATERIALE ȘI METODE

Au fost luați în studiu 42 cai de sport (curse de galop, trap, sărituri, atelaje și dresaj), prezentați la Clinica de Cabaline a FMV Budapesta pentru consultație ortopedică, cu anamneză de șchiopătură în diferite grade și efuzii ale articulației jaretului. Cailor aparțin mai multor rase și aveau ca origine țări învecinate Ungariei: 20% din România, 10% din Serbia, 5% din Germania, 5% din Croația și 5% din Austria, 55% Ungaria. Toți pacienții au fost examinați clinic, imagistic, cu dispozitivul LAMENESS DETECTOR 0.1 și apoi supuși intervenției chirurgicale de artroscopie.

Postoperator, toți cailor au fost supuși terapiei cu acid hialuronic 4 ml/articulație (Curavisc®) și triamcinolon 20 mg/animal (Triam HEXAL®) în zilele 5, 30 și 60 postoperator. Toți pacienții au fost urmăriți clinic în perioada de convalescență, în timpul reînceperii antrenamentelor și în primele cinci competiții după operație. Pe parcursul competițiilor, informațiile au fost furnizate de proprietari.

## REZULTATE ȘI DISCUȚII

Deși *osteocondrita disecantă* este o afecțiune amănunțit studiată și dezbătută, încă diagnosticul ei necesită multe investiții financiare, deoarece cea mai utilizată metodă de diagnostic este radiologia care pe lângă costurile aparatului necesită și o bună pregătire teoretică. În urma investigării gradului de șchiopătură în *osteocondrita disecantă* cu dispozitivul conceput de noi putem afirma faptul că evoluția procentuală a gradului de șchiopătură poate fi stabilit cu acuratețe. De exemplu pentru șchiopătura de 4/5 cel mai intens grad de șchiopătură stabilit în studiu, înainte de anestezia intraarticulară, la membrul drept procentul a fost de 4,76% iar la cel stâng de 9,52%. În urma anesteziei intraarticulare procentul gradului de șchiopătură a crescut la gradele de intensitate mai slabă (exemplu: 1/5, 2/5). Deoarece șchiopătura s-a ameliorat în anumite cazuri dar nu a dispărut, crescând procentul la gradele mai mici de șchiopătură.

McIlwraith în 1991 cercetând gradul de șchiopătură în OCD a stabilit că nu este un simptom constant înregistrat, însă în general dacă există este moderat. Excepție făceau cazurile care prezentau leziuni severe pe partea trochleară laterală a talusului (leziuni care implicau întreaga porțiune vizibilă artroscopic a regiunii menționate, în poziție de flexie). În studiul nostru șchiopătura a fost mai bine evidențiată și în majoritatea cazurilor a fost

motivul consultației. Deci, putem afirma faptul că OCD este o afecțiune ce poate fi caracterizată prin șchiopătură.

Întradevăr caii studiați de McIlwraith aveau vârsta cuprinsă între 2 și 5 ani iar cei din studiul nostru aveau vârste mult mai avansate. Posibil ca uzura competițională să intensifice gradul de șchiopătură, iar originea acestea să fie și în alte componente anatomice nu numai la suprafața cartilaginoasă lezată.

Media numărului de impulsuri pe axa X a fost cea mai elocventă în stabilirea gradului de șchiopătură. Bineînțeles că și valorile axelor Z și Y au un rol important în diagnostic dar, numai în corelație cu axa X. Putem afirma faptul că media impulsurilor pe axele accelerometrului este cel mai sigur element în stabilirea gradului de șchiopătură.

În medicina ecvină există și alte dispozitive de diagnostic Weirles dar au algoritmi de lucru totalmente diferiți. Aspectele radiologice depind foarte mult de localizarea leziunilor intraarticulare. În studiul nostru s-au evidențiat leziuni la nivelul tuturor zonelor predispuse și anume: creasta intermediară a cocleei tibiale, crestele troclei astragalului, tuberculul proximal al astragalului și maleolele tibiale. Shelley și Dyson în 1984 afirmă că modificările radiologice observabile care nu sunt leziuni caracteristice pentru OCD, includ fragmentele sau așchiile porțiunii terminale distale a crestei trochleare mediale a talusului.

McIlwraith într-un studiu pe 318 articulații a identificat leziunile OCD mai frecvent pe creasta intermediară a suprafeței articulare distale a tibiei, urmată de marginea trochleară laterală a talusului și maleola tibială medială. Fragmentele identificate radiologic de noi păstrează topografia leziunilor descrise în literatura de specialitate dar, produc șchiopătură mult mai intensă. Putem afirma faptul că dimensiunea fragmentelor nu influențează gradul de șchiopătură și nici distensia articulară.

Rasa reprezintă un factor important în patologia OCD la nivelul jaretului, este întâlnită cel mai frecvent la caii pursânge (Birkeland and Haakenstad, 1968, 1974; DeMoor, 1972; Stromberg and Rejno, 1978; Hoppe, 1984a,b; Sandgren, 1988; Alvarado, 1989; Grondahl, 1991; McIlwraith et al., 1991; Carlsten et al., 1993).

În studiul nostru, calul de Sport Unguresc a fost cel mai bine reprezentat cu un număr de 14 cazuri, urmat de caii de rasă comună 10 cazuri, Oldenburg 6 cazuri, Trăpași 5 cazuri, Frizieni și Holstein câte 2 cazuri iar Andaluz, Cal de Sport Olandez și Pursange Englez câte un caz. Distribuția pe rase este totalmente influențată de amplasarea geografică. Calul de Sport Unguresc fiind rasa națională este normal ca numărul cazurilor să fie mai mare, dar la formarea și ameliorarea lui au participat numeroase rase cu aportul lor genetic și bineînțeles cu influența genetică a OCD de la fiecare rasă. Grondahl în 1991 a efectuat un studiu în Norvegia, investigând radiologic 753 de trăpași norvegieni tineri. Leziunile de OCD au fost diagnosticate în cazul a 108 cai (14,3%). Modificări lezionale bilaterale au fost identificate în cazul a 49 de cai (45,4%). În studiul nostru procentul de leziuni bilaterale a fost de 59,52%, la membrul drept de 19,04%, iar la cel stâng de 21,42%. Procentul ridicat al leziunii bilaterale identificat de noi este cu puțință să aibă la origine vârsta mai înaintată și activitatea competițională a cailor, deoarece cei din studiul norvegian erau tineri înainte de activitatea sportivă. Femelele în

studiul nostru, au fost mult mai bine reprezentate (47,61%) urmate de masculi (33,33%) și de masculii castrați (19,04%). Valorile obținute de noi sunt asemănătoare cu cele din literatura de specialitate studiată. În cea ce privește vârsta în cadrul studiului nostru frecvența OCD au fost în intervalul 5-10 ani.

Alt studiu efectuat pe 77 de mânji Pursânge Englez, examinați clinic și radiografic de 6 ori de la naștere până la vârsta de 16 luni, oferă informații asupra perioadei de apariție a leziunilor detectabile radiografic (Sandgren,1988). Opt cai (10,4%) au avut laziuni de OCD la articulațiile jaretului, la vârsta de 12 luni (s-a considerat că au OCD permanent). Acești opt cai au manifestat cu toții osificare anormală și/sau OCD înainte de vârsta de 3 luni și patru dintre aceste leziuni au fost prezente înainte de vârsta de 1 lună. Cu privire la predispoziția articulației jaretului de a suferi leziuni de OCD, autorii studiului au observat deasemenea osificări encondrale anormale ale osului subcondral, aspect care a revenit la normal în cazul a 11 cai. Toți acești cai au fost supuși examenului radiologic la 7 și 8 luni, cu aspecte normale care s-au menținut și la 16 luni.

McIlwraith, 1991 într-un alt studiu clasifică leziunile crestei tibiale în funcție de dimensiunea fragmentelor desprinse, cu scopul de a stabili o legătură între dimensiunea fragmentelor și prognosticul competițional al animalului.

Dimensiunea fragmentelor nu a influențat prognosticul, iar utilitatea unei astfel de evaluări în examenul clinic este cu semnul întrebării. În cadrul studiului nostru fragmentele obținute prin artroscopie au fost măsurate, iar dimensiunea lor a fost cuantificată. Cele mai multe fragmente au avut dimensiunea de 0.7 cm și au fost în număr mult mai mare în articulația jaretului stâng. După McIlwraith 2012 rata de succes artroscopic cu reîntoarcerea competițională în relație cu dimensiunea fragmentelor extrase de la nivelul crestei intermediare distale a tibiei este după cum urmează: la 27 din 33 (81,8%) pentru leziunile de 1-9 mm, 86 din 116 (74,1%) pentru leziunile de 10-19 mm și 41 din 47 (87,2%) pentru leziuni de 20 mm sau mai mari. În studiul nostru rata de recuperare post artroscopică evaluată în primele cinci competiții a fost de 71,42%, valoare relativ asemănătoare cu cele descrise în literatura de specialitate. Unele leziuni chiar dacă nu se identifică radiologic pot fi descoperite artroscopic.

Într-un studiu efectuat pe 13 articulații supuse artroscopiei, în 4 cazuri au fost identificate efuziuni sinoviale la nivelul membrului contralateral fără să existe și modificări radiologice (3 cu leziuni pe creasta tibială intermediară distală și unul cu leziuni la nivelul maleolei mediale). În cazul altor 9 cabaline leziunile au fost următoarele: 4 maleola medială, 3 creasta trochleară laterală și 2 creasta trochleară medială, toate acestea au fost găsite în timpul artroscopierii fără informații anterioare radiologice (McIlwraith, 1991).

În studiul nostru efectuat pe 42 cabaline, 38 (56,71%) au prezentat fragmente pe creasta intermediară a cochleei tibiale, 7 (10,44%) au fost localizate pe creasta laterală a trochleei astragalului, 4 (5,97%) pe creasta medială a trochleei astragalului, 11 (16,41%) cavitatea medială a cochleei tibiale, 2 (2,98%) cavitatea laterală a cochleei tibiale, 1 (1,49%) maleola laterală a tibiei, 2 (2,98%) maleola medială a tibiei, 1(1,49%) artroză și 1(1,49%).

Nevoia intervenției chirurgicale la unele cazuri de OCD ale articulației tarsocrurale este cu semnul întrebării după unii autori, însă totuși literatura sprijină



abordarea chirurgicală (DeMoor et al., 1972; Stromberg and Rejno, 1978; McIlwraith, 1991). Într-un studiu care compară activitatea competițională a 25 de cai tratați conservativ cu 23 de cai operați artroscopic rezultatele competiționale sunt în favoarea lotului operat (Stromberg and Rejno, 1978). Hoppe (1984) a observat că pacienții cu OCD au înregistrat performanțe mai scăzute decât cei normali însă, în urma intervenției chirurgicale capacitatea acestora s-a îmbunătățit.

Când semnele clinice sunt prezente este recomandată intervenția chirurgicală, cu atât mai mult dacă este vorba despre o carieră sportivă a pacientului (McIlwraith, 1991). Chirurgia artroscopică este utilizată pe scară largă și rezultatele acesteia o consacraază. Se știe faptul că unii cai au avut cariere sportive complete în pofida prezenței unor leziuni OCD detectate radiologic.

McIlwraith, 1991 și Beard, 1994 afirmă că lipsa semnelor clinice se asociază cu o formă de stabilitate între leziunea propriu-zisă și os. Rezolvarea efuziunilor sinoviale reprezintă deasemenea un element de o importanță particulară în cazul proprietarilor de cai. Prezența modificărilor radiologice la nivelul articulațiilor tarsale distale (destul de frecvente) ar trebui luată în considerare la stabilirea prognosticului. Dacă un fragment OCD este liber în articulația intertarsală proximală, este recomandată îndepărtarea chirurgicală a acestuia. Fragmentele maleolei laterale au de obicei o origine traumatică și rareori sunt o manifestare a OCD (Martin and McIlwraith, 1985; McIlwraith, 1991).

## CONCLUZII PARȚIALE

- Dispozitivul *LAMENESS DETECTOR 0.1* s-a dovedit eficient în diagnosticul gradului de șchiopătură în *osteocondrita disecantă* a jaretului.
- Dimensiunea fragmentelor nu influențează evoluția postoperatorie a pacienților.
- Femelele sunt mai predispuse la *osteocondrita disecantă* a jaretului cu localizare bilaterală.
- *Osteocondrita disecantă* a articulației jaretului apare mai frecvent în perioada de activitate competițională maximă.
- Îndepărtarea fragmentelor de cartilaj prin artroscopie s-a dovedit eficientă, iar recuperarea postoperatorie somatică și competițională s-a desfășurat în condiții bune.

În **Capitolul IV** intitulat "*Caracterizarea morfologică și funcțională a celulelor stem mezenchimale ecvine sub influența Biofitomodulatorilor AD*", se evaluează efectul stimulator al Biofitomodulatorilor AD asupra MSCs în vederea utilizării lor ulterioare în tratamentul OCD. Scopul și obiectivele cercetărilor propuse în acest capitol urmăresc: Obținerea celulelor stem mezenchimale din țesutul adipos ecvin, izolarea, cultivarea și evaluarea lor în vederea caracterizării morfologice.

## MATERIALE ȘI METODE

S-a utilizat țesut adipos recoltat în condiții de sterilitate de la cinci cai aparținând mai multor rase, prezentați la Clinica de Cabaline a FMV Cluj-Napoca, în vederea diagnosticului de șchiopătură. Aceste probe au fost prelucrate enzimatic, iar celulele izolate au fost caracterizate fenotipic și funcțional. Evaluarea morfologică s-a realizat prin analiză microscopică zilnică. Testele funcționale au fost efectuate în trei culturi diferite (DIEE, DEA, M) în cazul fiecărei probe de țesut. Astfel au fost prelucrate în cadrul studiului câte cinci probe la fiecare tip de biofitomodulator și la martorul aferent.

## REZULTATE ȘI DISCUȚII

Utilizarea celulelor stem în medicina veterinară și în special în medicina ecvină este în continuă expansiune, depășind bariera regenerării tendinoase sau ligamentare. Celulele stem de origine adipoasă obținute în cadrul studiului nostru au dat dovadă de o mare capacitate de sinteză a matricei extracelulare sub formă de proteoglicani, GAG și nu au exprimat collagen de tip II pe parcursul cultivării. Kisiday JD. și col., în 2008 au demonstrat faptul că MSCs adipoase au răspuns bine la tratamentul cu TGFβ, exprimând un nivel ridicat de hidroxiprolină și producție de GAG cultivate pe hidrogel cu peptide. Acest lucru sugerează o posibilă exprimare a receptorilor MSCs adipoase pentru TGF sau cel puțin un răspuns pozitiv la factorul de creștere, lucru ce îl putem afirma și noi în urma rezultatele obținute.

Mackay AM. și col., 1998; Ponticiello MS. și col., 2000; Barry F. și col., în 2001 susțin că factorul de creștere TGFβ3 folosit în inducerea condrogenezei are efect în reglarea sintezei moleculelor de adeziune celulară a citokinelor și în sinteza receptorilor pentru citokine noi. În urma studiului efectuat de noi putem afirma faptul că MSCs adipoase tratate cu biofitomodulatori au avut o rată de adeziune satisfăcătoare prin formarea de colonii mari de 43,25% la DIEE și 40,20 la DEA, în timp ce la lotul martor aceasta a fost de 43,25%. Acest lucru demonstrează faptul că celulele mezenchimale aderă și fără acest factor și că biofitomodulatorii nu au un rol deosebit în procesul de stimulare a adeziunii celulelor stem. Se cunoaște că suprafața cartilajului articular este scăldată în lichid sinovial, lucru ce atrage după sine și o concentrație de oxigen relativ mică ( 5%) susține Wang DW. și col., 2005. În urma prezentului studiu, noi putem afirma faptul că în urma pasajelor efectuate la aceeași concentrație de oxigen, celulele au avut o perioadă de latență de aproximativ 72 de ore după care și-au reluat diviziunea. Mai putem afirma că nu s-au constatat diferențe semnificative între culturile DIEE, DEA și martor.

În cea ce privește timpul de dedublare la DIEE am înregistrat o medie de  $2.22 \pm 0.54$ , la DEA a fost în medie  $2.00 \pm 0.32$ , iar la martor a fost  $2.36 \pm 0.74$ , lucru ce este asociat cu o creștere a numărului de dedublări celulare.

Combinăția unor factori de creștere din gama BMP-6 și TGFb3 au efect anabolic asupra agregatelor de MSCs medulare (Shirasawa S. și col., 2006). Biofitomodulatorii nu au avut efectul amintit anterior, dar în urma interpretării profilului electroforetic, la lotul stimulat cu DEA, s-a confirmat prezența markerilor specifici condrocitari, demonstrând astfel capacitatea de direcționare condrogenică a acestor dispozitive.

Datorită accesului facil la MSCs adipoase în cazul cabalinelor, acestea sunt adesea o alegere atractivă pentru ingineria tisulară, dar investigații suplimentare sunt necesare înaintea utilizării lor clinice pe scară largă. Aceste investigații ar putea include comparații ale profilelor receptorilor de citokine TGFb și a caracteristicilor depunerilor matricei extracelulare ale MSCs adipoase (colagen I, II și X) în modele care să combine condițiile de diferențiere condrogenică și osteogenică (Muraglia A. și col., 2003).

Rezultatele studiului nostru in vitro pe celule izolate sunt comparabile cu cele descrise în literatura de specialitate, în care au fost utilizate alte metode, noi utilizând biofitomodulatorii. Elementul de noutate este reprezentat de către datele obținute în urma aplicării biofitomodulatorilor.

### CONCLUZII PARȚIALE

- Izolarea și cultivarea MSCs se realizează sub influența biofitomodulatori s-a realizat prin obținerea unor populații celulare cu caractere morfologice specifice celulelor stem mezenchimale.
- Rezultatele obținute în urma analizei fluorocitometrice indică prezența celulelor CD44 pozitive, caracteristic celulelor stem mezenchimale, negativitatea pentru markerii CD34/45 exclude originea hematogenă a celulelelor izolate.
- Testele funcționale demonstrează capacitatea clonală a celulelor izolate, capacitate care nu este influențată de prezența biofitomodulatorilor pe placa de cultivare.
- Răspunsul pozitiv la inducerea diferențierii direcționate în cazul culturilor stimulate cu Biofitomodulatori DEA și DIEE demonstrează plasticitatea celulelor izolate.
- Rezultatele pozitive obținute la testarea Biofitomodulatorilor sugerează posibilitatea utilizării acestora la diferențierea direcționată a MSCs se realizează.

În **Capitolul V** intitulat "*Evaluarea efectelor Biofitomodulatorilor AD și ale acidului hialuronic în vindecarea leziunilor condrale induse la iepure*", evaluează într-un model experimental leporin efectul reparator al Biofitomodulatorilor și al acidului hialuronic asupra cartilajului articular.

Ca scop, s-a avut în vedere identificarea unor mijloace alternative de terapie a leziunilor cartilajului articular prin utilizarea Biofitomodulatorilor AD tip DIEE, în comparație cu terapia clasică și evaluarea dinamicii reparatorii prin examinare clinică și histopatologică repetată la anumite intervale de timp.

## MATERIALE ȘI METODE

Au fost supuși studiului 36 de iepuri din rasa Uriaș German în varstă de 8 luni, proveniți dintr-o singură sursă. Pe durata studiului animalele au fost cazate în biobază și hrănite cu același tip de nutreț. Intervențiile chirurgicale s-au desfășurat sub anestezie generală, utilizând ketamină 35 mg/kg și xilazină 4 mg/kg administrate combinat intramuscular.

Zona de elecție a fost supusă regulilor de antisepsie și izolată cu câmpuri sterile. Tehnica chirurgicală a vizat efectuarea unei incizii între creasta tibiei și zona de inserție a capsulei articulare pe epifiza femurală distală. S-au efectuat defectele condrale la nivelul joncțiunii cocleei cu condilul femural lateral de 0,2/6,4 mm. Reconstituirea planurilor anatomice s-a efectuat bietajat. Iepurii au fost împărțiți în patru loturi: lotul M (martor), lotul BF (tratată cu biofitomodulatori), lotul H (tratată cu acid hialuronic după 5 zile), lotul HS (tratată cu acid hialuronic în mediu sângerând). Toți indivizii au fost supuși antibioticoterapiei cu enrofloxacină 25 mg/animal și evaluați clinic zilnic. Evaluarea proceselor de vindecare s-a făcut prin examene clinice și histopatologice.

Recoltările probelor pentru examenul histopatologic s-au efectuat în urma eutanasiei animalelor la 14, 30 și 60 de zile de la instituirea terapiei. În cazul lotului tratat cu acid hialuronic după cinci zile de la intervenție, recoltarea s-a făcut cu 5 zile mai târziu, astfel timpul scurs de la aplicarea tratamentului a fost identic. Piese recoltate au fost prelucrate în vederea obținerii preparatelor histologice.

## REZULTATE ȘI DISCUȚII

Modelul experimental utilizat pentru investigarea clinică și paraclinică a eficienței terapeutice a Biofitomodulatorilor AD tip DIEE și a acidului hialuronic s-a dovedit a fi adecvat. În urma evaluării gradului de șchiopătură s-a observat o scădere treptată a mediei acestuia la toate loturile, cea mai pronunțată scădere fiind observată la lotul HS, H și apoi BF. În urma evaluării statistice a gradului de șchiopătură, prin Testul „T”, între lotul BF și la lotul M precum și între lotul H și lotul M s-au înregistrat valori semnificative statistic doar în a șasea zi cu următoarele rezultate: lot M / BF (p : 0.014668), lot M / H (p: 0.014668).

La evaluarea statistică a diferenței gradului de șchiopătură între lotul M și HS s-au obținut valori cu înaltă semnificație statistică la toți timpii de evaluare.

Kang S-W și col., 2008 și Strauss E. și col., 2009 afirmă că viscosuplimentarea cu acid hialuronic a fost studiată pe leziuni cartilaginoase induse experimental la iepure, evaluându-se sensibilitatea articulară, aceasta dovedindu-se a fi mult mai mică la lotul tratat față de martor, administrarea fiind efectuată după un anumit timp de la producerea defectului. În studiul nostru acidul hialuronic a fost administrat atât imediat postoperator cât și la cinci zile postoperator, iar rezultatele obținute au fost satisfăcătoare. De remarcat este faptul că nu au fost relatate în literatura de specialitate rezultate care să dovedească utilizarea imediat postoperatorie a acidului hialuronic, aspect care a fost realizat în studiul de față.

Rezultatele prelucrate prin testul T, între loturile M și HS au fost cu înaltă semnificație statistică la toți timpii de evaluare clinică  $T1=0,00064$ ,  $T2= 0.000131$ ,  $T3= 0.000116$ ,  $T4=0.000371$ ,  $T5= 0.005036$ ,  $T6= 0.002827$ ,  $T7= 0.014668$ . Alte studii experimentale au demonstrat rezultate bune în urma utilizării acidului hialuronic în scopul regenerării condrocitare și a îmbunătățirii viabilității celulare, pe un model ce poate fi asociat studiului nostru.

La evaluarea vindecării defectului condral, valorile obținute la lotul tratat cu biofitomodulatori au fost incomparabil mai mari decât la celelele loturi aflate în studiu

Utilizare plantelor în regenerarea cartilaginoasă este citată în literatura de specialitate. Hougee S. în 2008 utilizează în tratamentul osteoartritei un produs numit Cararthron® având ca ingrediente rădăcina uscată de *Clematis mandshurica Rupr.* (Ranunculaceae), radacina uscata de *Trichosanthes kirilowii Maxim.* (Cucurbitaceae) și flori uscate de *Prunella vulgaris L.* (Laminaceae) și demonstrează posibilitatea reducerii proceselor inflamatorii prin intermediul acestuia. Toate studiile menționate mai sus se bazează pe efectul antiinflamator al plantelor administrate oral dar, nimeni nu a relatat informații legate de efectul energizant al acestora în urma terapiei topice, aspect ce a fost evaluat în studiul de față.

La recoltarea de la 14 zile, la lotul M, macroscopic s-a evidențiat o îngroșare a țesuturilor la locul de incizie în cazul unui singur individ, ulterior aceasta dovedindu-se a fi doar o reacție la firul de sutură.

S-au efectuat examene histopatologice din zona repectivă și s-a identificat un proces de fibroză a fasciei periarticulare. La lotul BF nu au fost identificate modificări macroscopice iar la loturile tratate cu acid hialurnic au prezentat doar o cantitate mai abundentă de lichid sinovial în comparație cu la lotul M și BF.

Microscopic la toate loturile, defectele s-au umplut cu țesut fibro-cartilagos, însă la lotul martor a fost întâlnită persistența fisurilor condrale. Pe lângă acest aspect au fost identificate zone de desprindere între cartilajul învecinat și panusul fibro-cartilagos la un număr semnificativ de preparate. Atât fisurile condrale cât și clivajul dintre cele două tipuri de țesuturi se datorează rezistenței mecanice slabe a panusului nou format. Iepurii din lotul BF nu au fost identificate în nici un preparat modificări de acest tip.

Strauss E. în 2009 a demonstrat că în cazul fisurilor condrale tratate cu 3 doze de acid hialuronic săptămânal, s-a obținut umplerea cu țesut a acestora îmbunătățindu-se aspectul histologic. Pe lângă aceasta și modificările degenerative de la nivelul cartilajului s-au redus în urma folosirii acidului hialuronic. Aceste modificări a fost întâlnite și în

studiul făcut de noi la loturile tratate cu acid hialuronic, structura tisulară fiind asemănătoare cu structura celorlalte loturi, însă procesele de metaplazie condrală au fost mai avansate. Microscopic condrocitele aveau aspect de cordoane așezate la baza defectului, țesutul fiind mai bine atașat la osul subcondral comparativ cu lotul martor.

De remarcat este faptul că, această structură a cartilajului articular a fost întâlnită și la lotul tratat cu biofitomodulatori unde pe alocuri s-a identificat și un stadiu incipient al unui proces de metaplazie condrală.

La recoltarea de la 30 de zile, nu au fost înregistrate modificări patologice macroscopice în cea ce privește formațiunile anatomice articulare. La toate probele lotului M, defectele au fost umplute cu țesut fibros dens care la suprafață era acoperit de un țesut fibros lax cu fibrele de collagen orientate în așa fel încât să confere mai multă rezistență panusului din defect.

La BF panusul era foarte bine ancorat în osul subcondral, procesele de metaplazie condrală întâlnite deja la 14 zile fiind avansate semnificativ. Panusul nu era exuberant ca în cazul lotului M unde depășea cu mult marginile defectului. În urma unui studiu asemănător, Figueroa D. și col., în 2014 nu au putut demonstra că tratamentul cu acid hialuronic (Hylan®) ar avea efect regenerativ semnificativ în cazul leziunilor condrale la iepuri, la 3 luni de la administrare. Mai mult, nu s-au putut vedea diferențe între caracteristicile histologice și macroscopice ale țesutului nou format în cazul tratamentelor cu o singură doză pe săptămână sau cu 3 doze pe săptămână. Defectele condrale s-au umplut cu țesut mixt format din fibrocartilaj și cartilaj hialin, cu diferențe de prezentare între probele studiate. Aceste aspecte le-am întâlnit și noi, preparatele H și HS prezentând diferențe semnificative în ceea ce privește populația celulară și modul de evoluție al panusului intralezional.

Modul precis de acțiune al acidului hialuronic în procesul de regenerare nu este pe deplin înțeles. Cu toate acestea unele studii afirmă că efectul nu constă doar în proprietățile mecanice ale acidului hialuronic ci și în stimularea producției endogene de hialuronat, inhibarea degradării proteoglicanilor și efecte antiinflamatoare (Campo GM. și col., 2011; Moreland LW., 2003; Dougados M., 2000). Strauss și col., 2009 a realizat o comparație după 3 luni de tratament la pacienți umani cu microfracturi administrându-le acid hialuronic 3 doze pe săptămână și 5 doze pe săptămână. Statistic tratamentul cu 3 doze pe săptămână s-a dovedit a fi mai eficient chiar și la 6 luni de la terapie.

La recoltarea de la 60 de zile nu s-au înregistrat modificări macroscopice, la lotul BF procesele de metaplazie cartilaginoasă au fost mult mai accentuate decât la celelalte loturi apropiinduse de structura nativă a cartilajului articular.

## CONCLUZII PARȚIALE

- Modelul experimental utilizat de noi se pretează pentru studierea vindecării defectelor cartilaginoase articulare.

- Procesele reparatorii în cadrul lotului BF, evaluate prin examene histologice, se derulează cu o viteză mai accentuată în comparație cu lotul martor, ceea ce demonstrează că biofitomodulatorii AD tip DIEE stimulează vindecarea condrală.
- În cadrul lotului H și HS procesele reparatorii au fost similare cu cele prezente la lotul BF și mai avansate decât la lotul M.
- Rezultatele obținute în cadrul acestui studiu sunt încurajatoare în vederea continuării cercetărilor privind efectul biofitomodulatorilor AD în terapia articulară.
- Acidul hialuronic administrat imediat postoperator a diminuat durerea articulară, reducând gradul de șchiopătură.

## CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI

- Dispozitivul Lameness Detector 0.1 reprezintă un instrument de precizie în evaluarea șchiopăturilor, iar media impulsurilor pe cele 3 axe este un element sigur de evaluat în stabilirea gradului de șchiopătură.
- Axa X este cea mai relevantă în graficul afișat de softwareul Lameness Detector 0.1., deoarece aceasta este axa ce înregistrează impulsurile din faza de înaintarea a pasului (de plutire).
- Dimensiunea fragmentelor de cartilaj nu influențează semnificativ evoluția postoperatorie a pacienților. Femelele au fost mai predispuse la osteocondrita disecantă a jaretului, iar aceasta a apărut mai frecvent în perioada de activitate competițională.
- Izolarea și cultivarea MSCSs ecvine sub influența biofitomodulatori s-a materializat prin obținerea unor populații celulare cu caractere morfologice specifice celulelor stem mezenchimale.
- Răspunsul pozitiv la inducerea diferențierii direcționate în cazul culturilor stimulate cu Biofitomodulatori DEA și DIEE demonstrează plasticitatea celulelor izolate.
- Procesele reparatorii de vindecare a cartilajului în cadrul lotului BF, evaluate prin examene histologice, se derulează cu o viteză mai accentuată în comparație cu lotul martor, ceea ce demonstrează ca biofitomodulatorii AD tip DIEE stimulează vindecarea condrală similar cu acidul hialuronic.
- Acidul hialuronic administrat imediat postoperator diminuează durerea articulară, reducând gradul de șchiopătură.
- Recuperarea post artroscopică este bună și recomandăm această metodă terapeutică în osteocondrita disecantă a jaretului.
- Rezultatele obținute în cadrul acestui studiu sunt încurajatoare în vederea continuării cercetărilor privind efectul biofitomodulatorilor AD în terapia articulară.

## Bibliografie

1. **AUER JÖRG A., JOHN A. STICK/ 2012, 2006, 1999, 1992/** Equine Surgery, FOURTH EDITION, Elsevier Saunders 245-821.
2. **McIlwraith C.W & J. F. Fessler., 1978,** Arthroscopy in the diagnosis of equine joint disease. *J Am Vet MedAssoc* 172:263-268
3. **McIlwraith C.W. & L.R. Bramlage. /1996/,** Surgical treatment of joint injuries. In, McIlwraith C.W, Trotter G.W., Ed: *Joint Disease in the Horse*, Philadelphia, WB Saunders.
4. **McIlwraith C.W. /2005/,** Use of synovial fluid and serum biomarkers in equine bone and joint disease: a review, *Equine vet. J.* 37 (5) 473-482
5. **McIlwraith, C. W. /1984/,** Experiences in diagnostic and surgical arthroscopy in the horse. *Equine veterinary journal*, 16(1), 11-19.
6. **McIlwraith, C. W., Frisbie, D. D., Rodkey, W. G., Kisiday, J. D., Werpy, N. M., Kawcak, C. E., & Steadman, J. R. /2011/,** Evaluation of intra-articular mesenchymal stem cells to augment healing of microfractured chondral defects. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery*, 27(11), 1552-1561.
7. **McIlwraith, C.W., J.J. Foerner, and M. Davis. /1991/** Osteochondritis dissecans of the tarsocrural joint: Results of treatment with arthroscopic surgery. *Equine Vet. J.* 23:155-162.
8. **Moreland LW. /2003/,** Intra-articular hyaluronan (hyaluronic acid) and hyalans for the treatment of osteoarthritis: mechanisms of action. *Arthritis Res Ther.*;5:54---67.
9. **Mow V.C., Proctor C.S., Kelly M.A. /1989/,** Biomechanics of articular cartilage. In: Nordin M, Frankel VH, editors. *Basic biomechanics of the musculoskeletal system*. Philadelphia: Lea & Febiger; p. 31– 57.
10. **Nixon A.J., Semevolos S, Brower-Toland BD, Bent S. /2002/** Parathyroid hormone-related peptide and Indian hedgehog expression patterns in naturally acquired equine osteochondrosis. *J Orthop Res* 20:1290-1297.
11. **Keegan KG, Wilson DA, Wilson DJ, et al. /1998/** Evaluation of mild lameness in horses trotting on a treadmill by clinicians and interns or residents and correlation of their assessments with kinematic gait analysis, *Am J Vet Res* 59:1370.
12. **Keegan KG, Yonezawa Y, Pai PF, et al. /2002/,** Telemeterized accelerometer-based system for the detection of lameness in horses, *Biomed Sci Instrum* 38:112
13. **Keegan KG, Yonezawa Y, Pai PF, et al. /2004/,** Sensor based system of equine motion analysis for the detection and quantification of forelimb and hindlimb lameness in horses, *Am J Vet Res* 65:665
14. **Kelmer G, Keegan KG, Kramer J, et al. /2005/,** Computer-assisted kinematic evaluation of induced compensatory lameness in horses trotting on a treadmill, *Am J Vet Res* 66:646.