

На правах рукописи

**ШАФИКОВ
РУСЛАН МАРАТОВИЧ**

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ
ЦИКЛОФОСФАМИДА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ
ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫХ
СПАЕК ОРГАНОВ БРЮШНОЙ ПОЛОСТИ**

14.01.17 – хирургия

**АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

УФА – 2010

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию».

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор
Латыпов Ринат Закирович

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук, профессор
Кунафин Марат Саубанович
доктор медицинских наук, профессор
Мехдиев Джамал Исаевич

Ведущая организация: Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский государственный медицинский университет им. Н.И. Пирогова Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию».

Защита диссертации состоится “____” _____ 2010 года в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.006.02 при Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» по адресу: 450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Автореферат разослан “____” _____ 2010 года.

Ученый секретарь диссертационного совета

Федоров С.В.

Актуальность проблемы

Ежегодно в стране увеличивается число проведенных абдоминальных операций. В этой связи четко просматривается тенденция к увеличению числа потенциальных больных, подверженных спаечной болезни брюшины (Ганцев Ш.Х., 1982; Хунафин С.Н., 1986; Плечев В.В. и соавт., 1999).

По данным Menzies, 1993 частота развития послеоперационных спаек после одной операции составляет 10%, после двух и трех – достигает 90%. Проблема спаечной болезни - это проблема операционной травмы (Гатауллин Н.Г. с соавт., 1988; Воробьев А.А., 2001; T. Matsuda et al, 2002).

На сегодняшний день существует множество способов профилактики послеоперационных брюшинных спаек, однако гарантированной защиты от повторного спайкообразования не существует. Даже применение миниинвазивных и лапароскопических оперативных вмешательств не исключает возможность возникновения спаечной болезни брюшины. Наиболее грозным и не предсказуемым осложнением возникших послеоперационных брюшинных спаек является развитие острой спаечной кишечной непроходимости с высокой летальностью, достигающей 21% (Женчевский Р.А., 1989; Плечев В.В. с соавт., 2008; Чекмазов И.А., 2008).

Известно, что основой патогенеза послеоперационных брюшинных спаек является образование соединительной ткани на травму брюшины, порой не укладывающееся в рамки законов деления и пролиферации клеточных элементов (Дубяга А.Н., 1978; Женчевский Р.А., 1989; Камалетдинов Н.Ф., 2000).

Данные литературы однозначно свидетельствуют о том, что при системных заболеваниях соединительной ткани (системная красная волчанка, склеродермия) и в онкологической практике циклофосфамид находит широкое применение как цитостатический препарат, вызывающий выраженный угнетающий эффект на пролиферацию быстроделющихся клеток (Савченко В.Г., 2001; Машковский М.Д., 2002).

В этой связи следует предположить возможность применения цитостатического препарата циклофосфида в целях подавления образования молодой соединительной ткани – основы спаечной болезни брюшины. Однако, в доступной литературе мы не нашли указаний по использованию циклофосфида для профилактики образования послеоперационных брюшинных спаек.

Цель исследования

Улучшение результатов интраоперационной профилактики спаечной болезни брюшины.

Задачи исследования

1. Изучить в эксперименте на животных контрольной группы уровень спайкообразования в брюшной полости в ответ на операционную травму.
2. Изучить уровень спайкообразования в брюшной полости в ответ на операционную травму в основной группе животных.
3. Изучить динамику изменения лейкоцитарной реакции экспериментальных животных в группах сравнения.
4. Изучить характер гистохимических изменений тканей в зоне операционной травмы в контрольной и основной группах.
5. Обосновать возможность и эффективность интраоперационного способа применения циклофосфида в целях профилактики спаечной болезни брюшины.

Научная новизна

Впервые доказан факт угнетения лейкоцитарной реакции животных в период интенсивного спайкообразования (до 7 суток), обеспечивающий переход репаративных процессов в сторону мезотелизации.

Впервые доказано существование прямой связи между угнетением лейкоцитарной реакции и подавлением образования брюшинных спаек,

происходящее при отсутствии нарушений нормальных обменных процессов в тканях (как по гликогену, так и по кислым гликозаминогликанам).

Впервые доказаны выраженные антиадгезивные свойства циклофосфида и разработан способ интраоперационного интрабдоминального введения в целях профилактики спаечной болезни брюшины (патент РФ №2393865).

Практическая значимость работы

1. Разработан способ интраоперационной интрабдоминальной профилактики брюшинных спаек путем применения циклофосфида отличающийся простотой выполнения, не требующий дополнительного оборудования и выполнимый в хирургических стационарах любой мощности.

2. Предложенный способ может быть применен в целях первичной профилактики и, особенно для профилактики рецидива спаечной болезни брюшины.

3. Циклофосфамид может быть использован в целях профилактики ранней спаечной кишечной непроходимости у больных, подвергаемых объемным оперативным вмешательствам на органах брюшной полости.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Сравнительная оценка экспериментальных данных до и после применения циклофосфида.

2. Однократно введенный в брюшную полость циклофосфамид достоверно снижает выраженность воспалительной реакции брюшины.

3. Экспериментальная оценка механизмов, обеспечивающих подавление повышенного деления и пролиферации клеточных элементов соединительной ткани.

Внедрение в практику.

Тема диссертационной работы входила в план научных исследований Башкирского государственного медицинского университета. Результаты проведенных научных исследований используются в программе научных разработок Российского Федерального центра пластической абдоминальной

хирургии, функционирующего на базе Клиники Башкирского государственного медицинского университета г. Уфы.

Апробация работы.

Основные положения диссертации доложены на Научно-практической межрегиональной конференции, посвященной 40-летию кафедры госпитальной хирургии ГОУ ВПО ТюмГМА Росздрава (г. Тюмень, 2008г.); на заседании кафедры хирургии с курсом эндоскопии ИПО БГМУ; Республиканской научно – практической конференции студентов и молодых ученых (г. Уфа, 2008 г.)

Публикации

По теме диссертации опубликовано 5 печатных работ, из них 3 работы в журналах, рецензируемых ВАК, получен 1 патент на изобретение.

Структура и объем работы.

Работа состоит из введения, четырех глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка использованной литературы. Главы включают в себя: обзор литературы (глава I), материалы и методы исследования (глава II), экспериментальная часть (глава III), оценка лейкоцитарной реакции (глава IV). Материалы исследования изложены на 101 страницах машинописного текста, иллюстрированы 24 рисунками, 6 таблицами. Указатель литературы включает 121 работы отечественных и 117 работ зарубежных авторов.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В соответствии с поставленными целью и задачами был выполнен эксперимент на 60 половозрелых беспородных кроликах обоего пола массой тела $3 \pm 0,1$ кг.

В первой серии опытов (контрольная группа) разрабатывалась оптимальная модель развития брюшинных спаек у животных. Проведены исследования на 30 беспородных кроликах массой $3 \pm 0,1$ кг. Производилось

десерозирование париетальной брюшины боковых стенок до капиллярного кровотечения. Дополнительно производилось десерозирование волосяной щеткой дистального участка подвздошной кишки на протяжении 3,0 см от илеоцекального угла до появления капиллярного кровотечения «кровоавой росы». Животные выводились из эксперимента на 14 сутки путем мгновенной декапитацией под эфирным наркозом. Выраженность спаечного процесса оценивалась по формуле предложенной Воробьевым А.А., Бебуришвили А.Г. (2001г.).

$$\text{УСП} = (X * Y) + Z$$

УСП – уровень спаечного процесса,

X – количество спаек по местам локализации,

Y – морфологический тип сращений (тяжевые спайки оценивались равным 1; пленчатые – 1,5; плоскостные – 2),

Z – площадь спаек (если спайка прикреплялась к органу на расстоянии до 0,5 см, то Z равно 1; если от 0,5 до 1 см – 2; от 1 до 2 см – 3).

Во второй серии экспериментов (основная группа) производилось изучение противоспаечных свойств циклофосаида.

Проведено исследование на 30 половозрелых беспородных кроликах массой $3 \pm 0,1$ кг. Всем животным производили операцию для индуцирования спаечного процесса в брюшной полости. Обезболивание – эфирный наркоз. Брюшную полость вскрывали срединным разрезом, выворачивали в сторону боковую стенку живота, обнажая париетальную брюшину. С обеих сторон производилось десерозирование париетальной брюшины боковых стенок до капиллярного кровотечения. Дополнительно производилось десерозирование волосяной щеткой дистального участка подвздошной кишки на протяжении 3,0 см от илеоцекального угла до появления капиллярного кровотечения «кровоавой росы». Брюшную полость орошали циклофосаидом 0,1г, растворенного в 3 мл физиологического раствора. Переднюю брюшную стенку послойно

зашивали непрерывными швами. На 14 сутки эвтаназировали животных и проводили макроскопическое исследование, также брали образцы париетальной брюшины, при наличии спаечного процесса - спайки, размерами 0,5 x 0,5 см на гистологическое исследование, фиксировали в 10% формалине и после соответствующей гистологической проводки изготовили срезы толщиной 7 мкм, окрашивали гематоксилин-эозином. Всего приготовлено 3900 микропрепаратов.

Результаты оценки выраженности спаечного процесса.

Таблица 1

Уровень спаечного процесса в зависимости от применения Циклофосфида ($M \pm \delta$, $n=60$) * ($p < 0,01$).

Группа	Частота и характер спаечного процесса				
	Частота (число случаев, %)	Количество спаек	Морфолог ический ти п	Площадь спаек	Уровень Спаечного процесса
1-я контроль (30)	30 (100%)	$4,43 \pm 0,81$	$7,55 \pm 1,5$	$8,92 \pm 2,6$	$43,41 \pm 14,49$
2-я основ ная (30)	6 (20%)	$0,17 \pm 0,46$	$0,16 \pm 0,46$	$0,17 \pm 0,46$	$0,4 \pm 1,22$

*-сравнение проводилось по критерию Фридмана

У всех 30 животных контрольной группы в брюшной полости спаечный процесс, причем у 4 животных он представлен конгломератом петель тонкой кишки, брюшной стенкой. Эти данные свидетельствуют о создании оптимальной модели для развития спаечного процесса в брюшной полости.

У 24 животных основной группы спаечный процесс не определялся, отсутствуют висцеровисцеральные, висцеропариетальные спайки. У 6

животных основной группы определяются нежные, единичные висцеропариетальные спайки. Средние значения плотности послеоперационных спаек представлены в таблице 1.

Таким образом, механическое удаление мезотелия висцеральной и париетальной брюшины сопровождается наличием всех признаков воспалительного процесса с последующей регенерацией тканей. В развитие воспалительной реакции определяется фазы альтерации, эксудации и пролиферации. На 14 сутки эксперимента отмечается выраженная фаза пролиферации, что приводит к формированию спайки ограниченного участка висцеральной и париетальной брюшины контрольной группы животных. В начальном периоде продукты распада нейтрофильных гранулоцитов, частично разрушенных тканевых структур серозной оболочки брюшины обуславливает приток макрофагов, моноцитов, а затем и фибробластического дифферона. К сроку эксперимента фибробласты оказались в фазе усиленной пролиферации и синтетической деятельности. Быстрое разрастание кровеносных капилляров способствовало развитию рыхлой соединительной ткани, обеспечивая прилипание висцеральной и париетальной брюшины с последующим взаимопроникновением коллагеновых волокон. В рыхлой соединительной ткани стимулированная синтетическая активность фибробластов способствовала чрезмерному отложению коллагеновых волокон и основного вещества с последующим образованием плотной соединительной ткани, то есть формируются все признаки рубцовой ткани между висцеральной и париетальной брюшиной как результат хронического воспалительного процесса.

У контрольной группы животных в прилегающих тканях определяется гиперемия в результате выделения вазоактивных веществ - медиаторов воспаления, вырабатываемыми макрофагами, тучными клетками. Базофилами, тромбоцитами и эндотелиальными клетками. Макрофаги концентрированы по периферии спайки. Иммунокомпетентные клетки инфильтрируют рыхлую

соединительную ткань серозной оболочки, а также прилегающую поперечнополосатую мышечную ткань брюшной стенки.

Формируется васкуляризированная молодая рыхлая волокнистая соединительная ткань с постепенным увеличением количества различных клеточных элементов (макрофагов, лимфоцитов, гранулоцитов и фибробластов). В этой ткани все больше откладывается коллагеновых волокон, формируя рубец. Соединительнотканые рубцы приводят к образованию спаек в брюшной полости. Фибробласты оказывают влияние также на деятельность других типов клеток соединительной ткани. Деятельность фибробластов регулируется факторами, вырабатываемыми макрофагами, лимфоцитами, эндотелиоцитами кровеносных капилляров, тромбоцитами. Местами в молодой регенерирующей соединительной ткани синтезированные коллагеновые волокна располагаются поодиночно или небольшими группами. Воспалительный процесс поддерживается гуморальными и клеточными элементами.

При изучении морфологических изменений выявлено, что у животных контрольной группы к моменту завершения эксперимента определялись прочные сращения петель тонкой кишки между собой и с париетальной брюшиной. Воспалительные процессы (альтерация и экссудация) в стенках брюшины и кишки были менее выражены, уменьшалась клеточная инфильтрация тканей. Отмечалось увеличение количества коллагеновых и эластических волокон в спайках, между ними располагались клетки с большими каплями жира, а также фибробласты. Вся соединительная ткань спаек пронизана кровеносными сосудами различного калибра.

Выявлено полное слияние поврежденных тканевых структур, границы определить невозможно, так как коллагеновые и эластические волокна тесно переплетены, располагались большими пучками и взаимно переходили друг в друга. В толще спаек проходили кровеносные сосуды с умеренным кровенаполнением.

Результаты исследований показали, что при травме серозной оболочки тонкой кишки и париетальной брюшины полное восстановление структур серозной оболочки с образованием спаек происходит в промежутке 10 -14 дней.

У животных основной группы имело место дальнейшее развитие асептического воспалительного процесса. Серозная оболочка в зоне операционной травмы была покрыта однослойным плоским эпителием - мезотелием, расположенным на базальной мембране. Кровеносные сосуды относительно без изменений, застой крови не определяется. В межклеточном веществе хорошо развиты пучки коллагеновых волокон.

Выявлено полное восстановление разрушенного мезотелия и подлежащей соединительной ткани. Висцеральная и париетальная брюшина покрыта однослойным плоским эпителием – мезотелием у 24 животных. Гистологические структуры всех оболочек тонкой кишки и париетальной брюшины были без изменений.

Итак, анализ полученных в этом разделе данных показал, что под воздействием цитостатического препарата циклофосфида в большинстве случаев происходит выраженное подавление развития соединительной ткани и заживление зоны травмы протекает по механизму мезотелизации.

В этой связи, перед нами встала задача изучения влияния циклофосфида на клеточный метаболизм, обменные процессы в зоне операционной травмы.

Гистохимическая оценка выявила, что у животных контрольной группы кислые гликозаминогликаны и гликоген проявляли высокую активность в соединительнотканной основе серозной оболочки, при этом отмечалась высокая реакция как в межклеточном веществе, так и в клеточных элементах соединительной ткани. Мышечная оболочка, а также соединительнотканная основа слизистой оболочки проявляли умеренную реакцию на гликоген и кислые гликозаминогликаны (табл.2).

Распределение животных контрольной и основной групп в зависимости от степени выраженности реакции ($M \pm \delta$, $n=63$)* $p < 0,01$

Вид	группа	высокая	умеренная	слабая	интактная
реакция	Контроль	$46 \pm 2,2$	$14 \pm 0,8$	$3 \pm 0,08$	-
Мак-	($n=63$)				
Мануса	Основная	$40 \pm 1,8$	$19 \pm 0,2$	$4 \pm 0,09$	-
на	($n=63$)				
гликоген					
реакция	Контроль	$45 \pm 2,3$	$10 \pm 0,5$	$5 \pm 0,5$	-
Хейла на	($n=63$)				
КГАГ	Основная	$40 \pm 1,5$	$16 \pm 1,2$	$4 \pm 0,2$	-
	($n=63$)				

*- сравнение проводилось по критерию Фридмана

В то время как у животных основной группы травмированная поверхность серозной оболочки, мышечная и соединительнотканная основа слизистой оболочки проявляли умеренную реакцию на гликоген, при этом сохранялась высокая реакция только в эпителиоцитах слизистой оболочки.

Однослойный плоский эпителий и соединительнотканная основа серозной оболочки проявляли умеренную реакцию на гликоген. Зона высокой гистохимической активности определяется не только узкой и поверхностной частью соединительнотканной основы брюшины, но и в остальных участках серозной оболочки. В прилегающей части мышечной оболочки, а также со стороны париетальной брюшины (скелетная мускулатура брюшной стенки) реакция на гликоген умеренная. Во всех структурных элементах слизистой

оболочки тонкой кишки гистохимическая реакция на гликоген умеренная, а в зоне расположения лимфоидных структур слабая.

В гистологических препаратах основной группы животных с десерозированием париетальной и висцеральной брюшины и применением циклофосфида, гистохимическая реакция на КГАГ проявляется следующим образом. Десерозированная поверхность проявляет умеренную реакцию на КГАГ. Гистохимическая реакция париетальной брюшины тоже умеренная, КГАГ равномерно определяются во всех участках соединительной ткани брюшины. В мышечной оболочке тонкой кишки активность гистохимической реакции на КГАГ остается умеренной, такая же реакция тканевых структур слизистой оболочки тонкой кишки, в том числе эпителиальный слой ворсинок и крипт, однако бокаловидные клетки проявляют высокую гистохимическую реакцию.

При применении циклофосфида сохраняются высокие гистохимические показатели брюшины, указывающие на сохранение обменных процессов.

Вместе с тем, поскольку любое заживление раны протекает по общим законам воспалительного процесса, решающее значение приобретает изучение ответной лейкоцитарной реакции организма на полученную травму.

Большое клиническое значение имеет оценка физиологической активности нейтрофилов. Методы такой оценки основаны на определении адгезивной и фагоцитарной активности этих клеток. Производилось определение иммунного статуса кроликов как контрольной, так и основной группы на 7, 14 сутки, путем определения общего количества лейкоцитов, развернутой лейкоформулы. Функциональное состояние фагоцитов (полиморфоядерные лейкоциты и макрофаги) оценивали по способности поглощать частицы латекса и по способности к активации кислородзависимого метаболизма по тесту восстановления нитротетразолиевого синего (НСТ-тест). Методы интегральной оценки физиологической активности нейтрофилов –

определение активности фагоцитоза нейтрофилов на разных этапах (спонтанный и стимулированный НСТ-тест).

Из табл. 3 следует, что на 7 сутки у животных основной группы происходит достоверное снижение лейкоцитов периферической красной крови, с их увеличением на 14 сутки. Тогда как у животных контрольной группы происходит увеличение лейкоцитов периферической красной крови на 7 сутки, с их последующим снижением на 14 сутки.

Таблица 3

Динамика изменений лейкоформулы на 7, 14 сутки после операции с применением Циклофосфамида ($M \pm \delta$, $n=16$)

Вид	группа	До операции	7 сутки	14 сутки	Уровень значимости
Лейкоциты ($10^9/\text{л}$)	Контроль ($n=8$)	$6,4 \pm 0,8$	$7,4 \pm 1,2$	$3,5 \pm 0,6$	$p=0,006$
	Основная ($n=8$)	$6,4 \pm 0,9$	$4,5 \pm 0,6$	$7,6 \pm 0,4$	$p=0,004$
Нейтрофилы	Контроль ($n=8$)	$1,2 \pm 0,5$	$2,1 \pm 0,6$	$0,7 \pm 0,2$	$p=0,007$
	Основная ($n=8$)	$1,2 \pm 0,5$	$1,0 \pm 0,6$	$1,4 \pm 0,2$	$p=0,623$
Лимфоциты	Контроль ($n=8$)	$4,8 \pm 0,4$	$4,9 \pm 1,2$	$2,4 \pm 0,3$	$p=0,022$
	Основная ($n=8$)	$4,7 \pm 0,4$	$3,7 \pm 0,08$	$5,7 \pm 0,7$	$p=0,007$

При применении Циклофосфамида определяется подавление лейкоцитов всех типов, преимущественно лимфоцитов, угнетение нейтрофилов незначительное.

В основной группе животных развивается выраженная лейкопения на 7 сутки после операции. Максимальная лейкопения связана с тем, что в первые сутки идет выброс зрелых клеток из депо, частично компенсирующие иммунодефицит.

Данные НСТ-теста (табл. 4, рис.1), фагоцитоза (табл. 5, рис.2), повышение показателей НСТ-теста у животных основной группы, объясняются низкой дозой препарата (30 мг/кг), опосредованно стимулирующим влиянием на иммунную реактивность организма.

Параллельно с указанными изменениями происходит усиление фагоцитарной активности нейтрофилов, по НСТ-тесту - резкий рост числа активированных нейтрофилов на 7 сутки. На 14 сутки в периферической крови животных основной группы наблюдается лейкоцитоз, за счет повышения общего количества, как нейтрофилов, так и лимфоцитов. Связано это с выведением Циклофосфамида из организма и последующей компенсаторной реакцией иммунной системы на воспалительный процесс.

Отмечается резкое снижение числа активных нейтрофилов в процентном отношении и по индексу активации НСТ – теста. Параллельно повышается уровень фагоцитоза, свидетельствующий об активности макрофагальной системы. По-видимому, стимуляция фагоцитоза происходит по кислороднезависимому механизму, судя по данным НСТ-теста. По-видимому, стимуляция фагоцитоза происходит по кислороднезависимому механизму, судя по данным НСТ-теста. Следует отметить, что фагоцитоз - защитная реакция организма от различных чужеродных агентов. Кислородзависимый метаболизм выполняет бактерицидные функции, и поэтому активируется в присутствии микробного агента.

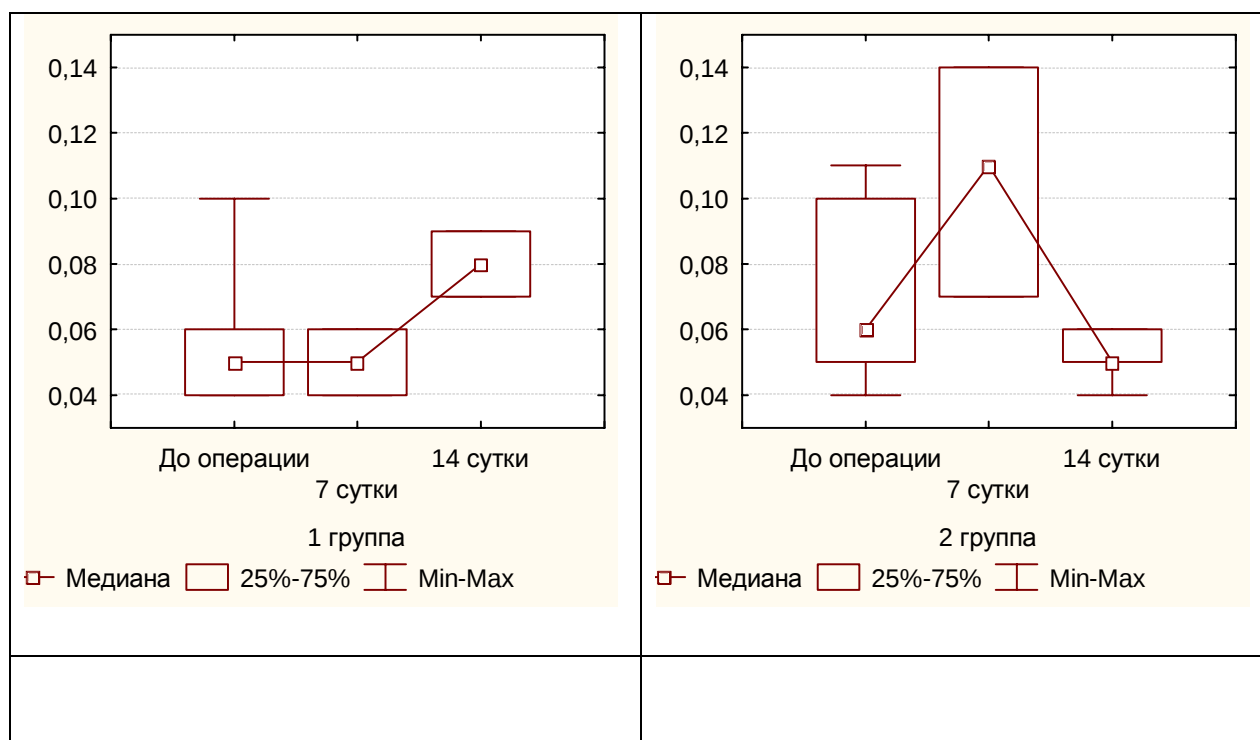


Рис. 1. НСТ активный в контрольной и основной групп животных по критерию Манна-Уитни.

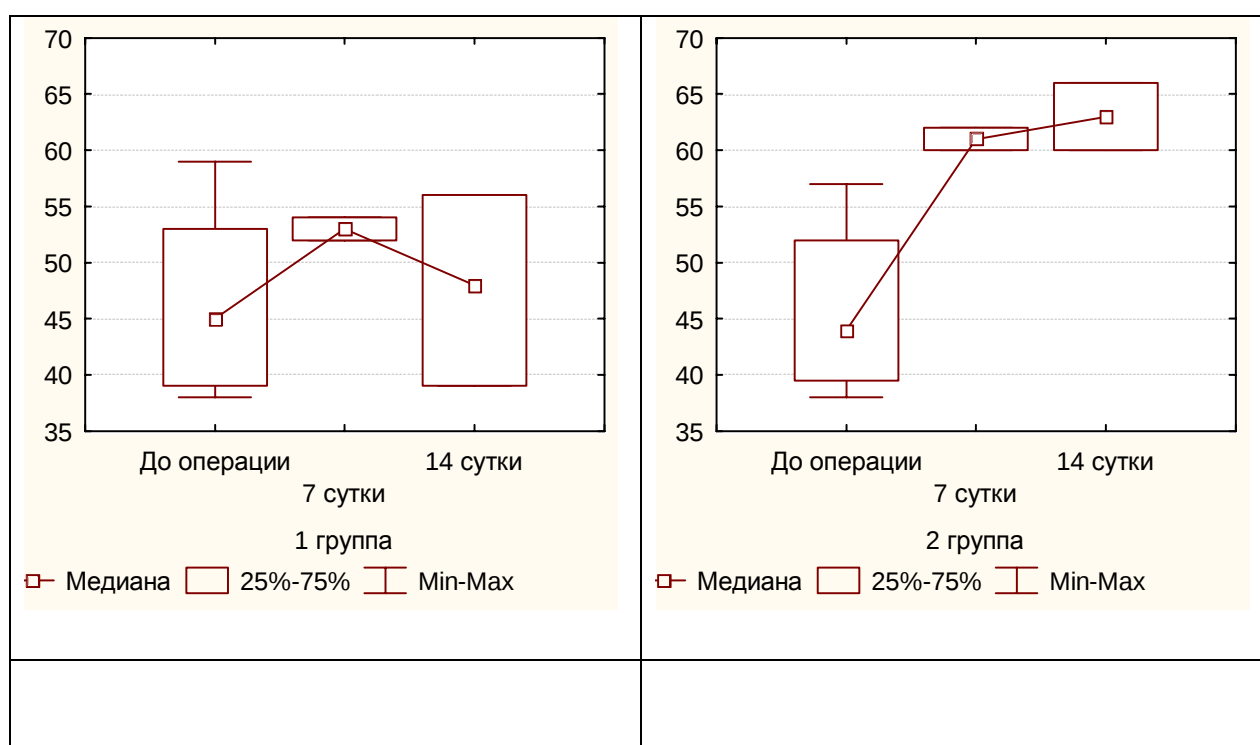


Рис. 2. Показатели фагоцитарного числа в контрольной и основной групп животных по критерию Манна-Уитни.

**Динамика показателей активности фагоцитоза нейтрофилов на 7, 14
сутки после операции ($M \pm \delta$, n=16)***

Вид	группа	До операции	7 сутки	14 сутки	Уровень значимости
НСТ спонтанный, индекс активации	Контроль (n=8)	0,05 $\pm$ 0,2	0,05 $\pm$ 0,008	0,08 $\pm$ 0,008	p=0,023
	Основная (n=8)	0,06 $\pm$ 0,2	0,1 $\pm$ 0,02	0,05 $\pm$ 0,008	p=0,009
НСТ активный, % активации	контроль (n=8)	3,8 $\pm$ 1,3	3,6 $\pm$ 0,5	6,2 $\pm$ 0,8	p=0,036
	Основная (n=8)	3,8 $\pm$ 0,8	8,0 $\pm$ 1,2	2,9 $\pm$ 0,1	p=0,009

* - сравнение проводилось по критерию Фридмана

Поскольку изучение фагоцитоза проводилось на интактных животных, а не на фоне инфекции, отсутствие активации «дыхательного взрыва» является вполне естественным.

Таким образом, в контрольной группе происходит вышеописанная лейкоцитарная реакция в ответ на операционную травму, достоверно подтвержденная лабораторными данными периферической красной крови.

В основной группе, лабораторные данные однозначно свидетельствуют о снижении лейкоцитарной реакции макроорганизма.

Динамика показателей фагоцитоза нейтрофилов на 7, 14 сутки после операции ($M \pm \delta$, $n=16$)*

Вид	группа	До операции	7 сутки	14 сутки	Уровень значимости
Фагоцитарное число	Контроль ($n=8$)	$46,0 \pm 9,0$	$53,0 \pm 1,1$	$47,7 \pm 6,9$	$p=0,368$
	Основная ($n=8$)	$45,7 \pm 7,9$	$61,0 \pm 1,1^*$	$63,0 \pm 3,4^*$	$p=0,038$
Фагоцитарный индекс	Контроль ($n=8$)	$4,2 \pm 0,5$	$3,1 \pm 0,2^*$	$3,9 \pm 0,3$	$p=0,029$
	Основная ($n=8$)	$4,1 \pm 0,5$	$5,1 \pm 0,2$	$5,1 \pm 0,1$	$p=0,039$

* - сравнение проводилось по критерию Фридмана

Увеличение фагоцитарной активности сегментоядерных нейтрофилов (качественные показатели), при относительно меньшем увеличении их количества по сравнению с контрольной группой становится возможным объяснить способностью циклофосфида увеличивать мощность механизмов перекисного окисления липидов. Иначе говоря, увеличивается качественная активность сегментоядерных нейтрофилов, их «специализация», количество переходит в качество.

Это позволяет прийти к выводу о том, что использованный нами циклофосфамид даже в малых дозах при однократном введении в брюшную полость в условиях эксперимента на животных достоверно и значительно снижает частоту образования послеоперационных спаек.

Таблица 6

Расчет сопряженности относительных показателей эффекта применения циклофосфамида для профилактики послеоперационных спаек органов брюшной полости

Исследуемая группа	Неблагоприятный эффект		Всего
	был	отсутствовал	
Основная группа с применением циклофосфамида	6 (А)	24 (Б)	30
Контрольная группа без применения циклофосфамида	29 (В)	1 (Г)	30

1. Абсолютный риск (P_1) неблагоприятного исхода применения циклофосфамида в основной группе:

$$P_1 = A/(A+B) = 6/30 = 0,2 \text{ (20\%).}$$

2. Абсолютный риск (P_2) неблагоприятного исхода без применения циклофосфамида в контрольной группе:

$$P_2 = B/(B+Г) = 29/30 = 0,966 \text{ (96,6\%).}$$

3. Абсолютное снижение риска (АСР) неблагоприятного исхода:

$$АСР = P_1 - P_2 = -0,766 \text{ (76,6\%).}$$

4. Число животных (ЧЖ), которых необходимо лечить, чтобы предотвратить один неблагоприятный исход:

$$ЧЖ = 1/АСР = 1/0,766 = 1,3.$$

5. Относительный риск неблагоприятного исхода:

$$ОР = [A/(A+B)]/[B/(B+Г)] = [6/(6+24)]/[29/(29+1)] = 0,2.$$

6. Шансы неблагоприятного исхода при применении циклофосфида:

$$\Pi_1 = A/B = 6/24 = 0,25.$$

7. Шансы неблагоприятного исхода без применения циклофосфида:

$$\Pi_2 = B/\Gamma = 29/1 = 29.$$

8. Отношение шансов:

$$\text{ОШ} = \Pi_1 / \Pi_2 = (A/B) / (B/\Gamma) = 0,25/29 = 0,0086.$$

В нашем исследовании введение циклофосфида было более успешным, так как АСР имеет отрицательное значение, что характеризует терапевтическую пользу. Для определения перспективы метода лечения определяли показатель ЧП. Переводя относительные величины, получаем число животных, которым необходимо вводить циклофосфамид, чтобы предотвратить один неблагоприятный исход. Низкие показатели относительного риска (0,2) и отношения шансов (0,0086) позволяют судить о том, что применении циклофосфида приводит к существенному снижению риска неблагоприятного исхода. Абсолютное снижение риска неблагоприятного исхода при применении циклофосфида составляет 76,6%, что в пять раз ниже по сравнению с контрольной группой.

Соответственно, применяемый Циклофосфамид даже в малых дозах при однократном введении в брюшную полость в условиях эксперимента на животных достоверно и эффективно снижает образование послеоперационных спаек.

ВЫВОДЫ.

1. У всех животных контрольной группы на стандартную операционную травму выявлено образование брюшинных спаек. При этом отмечается высокий уровень спайкообразования, достигающий $43,41 \pm 14,49$ баллов по формуле Воробьева А.А., Бебуришвили А.Г.

2. При однократном интраоперационном применении циклофосфида спайкообразование выявлено только у 1/5 животных. У данной группы развивается минимально низкий уровень спайкообразования $0,4 \pm 1,22$ баллов.
3. На основании сравнительного анализа данных доказано количественное и качественное снижение лейкоцитарной реакции у животных основной группы с выраженной лейкопенией. Незначительное увеличение НСТ-теста на 7 сутки после операции обусловлено влиянием малой дозы циклофосфида.
4. При применении циклофосфида сохраняются высокие гистохимические показатели брюшины, указывающие на отсутствие нарушений обменных процессов.
5. На основании сравнительного анализа экспериментальных данных и абсолютного снижения риска неблагоприятного исхода на 76.6%, доказана высокая эффективность и безопасность интраоперационного способа применения циклофосфида в целях профилактики спаечной болезни брюшины.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Полученные результаты проведенных исследований позволяют рекомендовать циклофосфамид для клинической апробации в целях профилактики спаечной болезни брюшины.

2. Циклофосфамид необходимо вводить интраоперационно в брюшную полость в дозировке 30 мг/кг.

3. Противопоказанием к применению циклофосфида является острая спаечная кишечная непроходимость, осложненная перитонитом и рецидивом спаечной болезни брюшины, требующей резекции полого органа.

Список работ опубликованных по теме диссертации

1. Суфияров, И.Ф. Экспериментально-морфологическое обоснование применения циклофосфамида для профилактики послеоперационных перитонеальных спаек / И.Ф. Суфияров, Р.М. Шафиков, М.Т. Юлдашев // Пермский медицинский журнал. – 2008. – Т. 25, № 3. - С. 128-132.
2. Противоспаечные барьеры в абдоминальной хирургии / И.Ф. Суфияров, Р.М. Шафиков, С.С. Нигматзянов, С.Х. Бакиров // Казанский медицинский журнал. – 2008. - Т. 89, № 5. - С. 697-700.
3. Суфияров, И.Ф. Экспериментальное обоснование применения циклофосфамида для профилактики развития спаечной болезни брюшины / И.Ф. Суфияров, Р.З. Латыпов, Р.М. Шафиков // Медицинская наука и образование Урала. - 2008. - № 3. - С. 118-119.
4. Шафиков, Р.М. Экспериментально - морфологическое обоснование применения циклофосфамида для профилактики послеоперационных перитонеальных спаек / Р.М. Шафиков // Вопросы теоретической и практической медицины: материалы 73-й итоговой Республиканской научной конференции студентов и молодых ученых. – Уфа, 2008. - Т. II. - С. 123-124.
5. Влияние иммуносупрессии индуцированной циклофосфамидом на развитие послеоперационных брюшинных спаек / Р.З. Латыпов, И.Ф. Суфияров, С.В. Сибиряк, Р.М. Шафиков // Медицинский вестник Башкортостана. - 2009. - Т. 4, № 4. - С. 64-67.

**ШАФИКОВ
РУСЛАН МАРАТОВИЧ**

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ
ЦИКЛОФОСФАМИДА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ
ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫХ
СПАЕК ОРГАНОВ БРЮШНОЙ ПОЛОСТИ**

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Подписано в печать 12.11.10 г. Формат 60х84 1/16.
Бумага офсетная. Печать ризографическая. Тираж 100 экз. Заказ 441.
Гарнитура «TimesNewRoman». Отпечатано в типографии
«ПЕЧАТНЫЙ ДОМЪ» ИП ВЕРКО.
Объем 1 п.л. Уфа, Карла Маркса 12 корп. 4,
т/ф: 27-27-600, 27-29-123