

На правах рукописи

Кузнецов Юрий Владимирович

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОБРАБОТАННЫХ АНТИБИОТИКОМ
АУТОЛЕЙКОЦИТОВ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ИНФЕКЦИИ ПРИ
ПРОТЕЗИРУЮЩИХ ПЛАСТИКАХ ИНЦИЗИОННЫХ ВЕНТРАЛЬНЫХ
ГРЫЖ**

14.01.17 – хирургия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Новосибирск – 2011

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

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Добряков Борис Семенович

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор

Шевела Андрей Иванович

доктор медицинских наук

Шумков Олег Анатольевич

Ведущее учреждение: Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Алтайский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» (г. Барнаул)

Защита состоится «___»_____ 2010 г. в ___ часов на заседании диссертационного совета Д 208.062.03 при Новосибирском государственном медицинском университете (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, д. 52; тел/факс (383) 229-10-83)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, д. 52)

Автореферат разослан «___»_____ 2010 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

доктор медицинских наук

М. Н. Чеканов

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Применение в герниологии синтетических материалов обеспечило уменьшение количества рецидивов грыж (Егиев В. Н., 2006; Тимошин А. Д. и соавт., 2006), но обнажило новую проблему, характерную для хирургии имплантатов – увеличение количества случаев развития инфекции в области хирургического вмешательства (Gal I. et al., 2002; Korenkov M. et al., 2002; Kingsnorth A. N. et al., 2004; Жебровский В. В. и соавт., 2002). Антибактериальная профилактика при аутопластических способах не предполагается (Taylor E. W., 2003; Носов В. Г., 2007). Необходимость антибактериальной профилактики (далее – АБП) развития инфекции в области хирургического вмешательства (далее – ИОХВ) при лечении послеоперационных вентральных грыж с имплантацией синтетических материалов четко не определена и способы ее применения разработаны явно недостаточно (Павленко В. В., 2004; Rios A. et al., 2001; Zuvela M. et al., 2005; Aufenacker T. J. et al., 2006; Ахтамов Ж. А., 2008.).

Цель исследования. Улучшить результаты протезирующей пластики инцизионных вентральных грыж за счет снижения количества раневых осложнений путем местного использования экстракорпорально обработанных антибиотиком аутолейкоцитов.

Задачи исследования.

1. Исследовать бактерицидную активность экстракорпорально обработанных антибиотиком аутолейкоцитов.
2. Изучить влияние лейкоцитарного сгустка на течение раневого процесса при имплантации полипропиленового сетчатого протеза (далее – ПСП) в эксперименте на лабораторных животных.
3. Исследовать и сравнить течение раннего послеоперационного периода у больных, оперированных по поводу инцизионных вентральных грыж, при различных способах проведения антибактериальной профилактики ИОХВ, а также путем имплантации экстракорпорально связанных с антибиотиком аутолейкоцитов.

4. Исследовать содержание провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в раневом отделяемом у больных с инцизионными вентральными грыжами при различных способах профилактики инфекции.

5. Провести сравнительную оценку эффективности применения различных способов антибактериальной профилактики ИОХВ при грыжесечениях по поводу инцизионных грыж.

Научная новизна. Разработана методика профилактики ИОХВ в зоне имплантации ПСП путем введения в данную зону экстракорпорально обработанных антибиотиком аутолейкоцитов (далее – ЭОАЛ).

В эксперименте *in vitro* доказана бактерицидная активность ЭОАЛ в отношении бактериальной микрофлоры, являющейся наиболее частым источником ИОХВ.

В опытах на лабораторных животных получены новые данные о положительном влиянии ЭОАЛ на течение раневого процесса при имплантации полипропиленового сетчатого протеза.

Практическая значимость работы. Разработан и внедрен новый способ профилактики ИОХВ при протезирующих пластиках грыжевых ворот у больных с ИВГ. Впервые в клинике получено снижение количества случаев ИОХВ при имплантации полипропиленового сетчатого протеза у больных с инцизионными вентральными грыжами при помощи препарата из аутолейкоцитов, обработанных антибиотиком (ЭОАЛ). Разработанная методика введения ЭОАЛ в зону имплантации ПСП позволяет отказаться от рутинной антибиотикопрофилактики, а также уменьшить нежелательные явления антибиотикопрофилактики при ее системном использовании. Снижение количества местных раневых осложнений (одной из причин рецидивов) у больных с ИВГ позволяет повысить надежность протезирующих пластик грыжевых ворот и снизить количество рецидивов грыж.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Применение ЭОАЛ в клинической практике у больных с ИВГ при имплантации ПСП является патогенетически обоснованным вследствие максимального приближения антибиотика к области операции, что подтверждается полученными экспериментальными данными.

2. Применение ЭОАЛ в качестве имплантационного способа профилактики ИОХВ приводит к уменьшению болевого синдрома, уменьшает зону воспалительной инфильтрации, ускоряет сроки ликвидации инфильтрата, уменьшает количество раневого отделяемого, что приводит к более благоприятному течению послеоперационного периода.

3. Применение ЭОАЛ по сравнению с другими способами антибактериальной профилактики приводит к более скорой нормализации температурной реакции, более скорой нормализации лабораторных показателей воспаления, а также к преобладанию в раневом отделяемом противовоспалительных цитокинов.

4. Интраоперационное использование ЭОАЛ приводит к уменьшению раневых осложнений и снижению количества рецидивов грыжи.

Внедрение результатов работы. После одобрения работы локальными этическими комитетами Муниципального учреждения здравоохранения «Городская клиническая больница № 12» (протокол № 5 от 31.03.2008) и Муниципального учреждения здравоохранения «Городская клиническая больница № 2» (протокол № 2 от 22.04.10), разработанные способы профилактики ИОХВ при хирургическом лечении больных с ИВГ внедрены в практику герниологического центра МУЗ «ГКБ № 12» и в хирургическом отделении МУЗ «ГКБ № 2», г. Новосибирск.

Апробация материалов диссертации. Основные положения диссертации были доложены и обсуждены на III съезде хирургов Сибири и Дальнего востока (Томск, 2009), на Международной конференции «Современное состояние и перспективы герниологии» (Калининград, 2008), на Международной конференции «Фундаментальные проблемы лимфологии и клеточной биологии» (Новосибирск, 2008).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 5 работ, в том числе 1 – в ведущем рецензируемом научном журнале, рекомендованном ВАК для публикации материалов диссертаций.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 121 странице компьютерного текста и состоит из введения, пяти глав, выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы, содержащего 152 отечественных и 91 зарубежных источника. Работа содержит 25 таблиц, иллюстрирована 22 рисунками.

Личный вклад автора. Диссертационный материал в полном объеме собран, обработан и проанализирован лично автором.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа проводилась на кафедре хирургических болезней педиатрического факультета Новосибирского государственного медицинского университета, в хирургических отделениях МУЗ «ГКБ № 12» и МУЗ «ГКБ № 2», в сотрудничестве с Научно-исследовательским институтом клинической иммунологии СО РАМН (ГУ НИИКИ СО РАМН), г.Новосибирск. Дизайн исследования представлен на рис. 1.

Экспериментальная часть работы. Кровь забиралась в стерильных условиях в стационаре и доставлялась в лабораторию клеточных биотехнологий ГУ НИИКИ СО РАМН (г. Новосибирск). Выделение лейкоцитов осуществляли на градиенте плотности фиколла. Количество выделенных клеток составило от 15 до 20×10^6 , преимущественно гранулоцитов в каждом случае. Клетки помещали на 18 часов в CO_2 -инкубатор в 10 мл полной среды на основе RPMI 1640 с добавлением 0,1 г цефазолина (цефазолин сандоз 1,0 г, пр-во Сандоз Гмбх, Биохемиштрассе, 10, А-6250, Кундль, Австрия). Затем клетки снимались со дна культурального пластика, 2-хкратно отмывались от среды (остатки культуральной среды с антибиотиком удалялись промоканием стерильной фильтровальной бумаги) и ресуспензировались в аутоплазме. Добавлением CaCl_2 формировался плазматический сгусток.

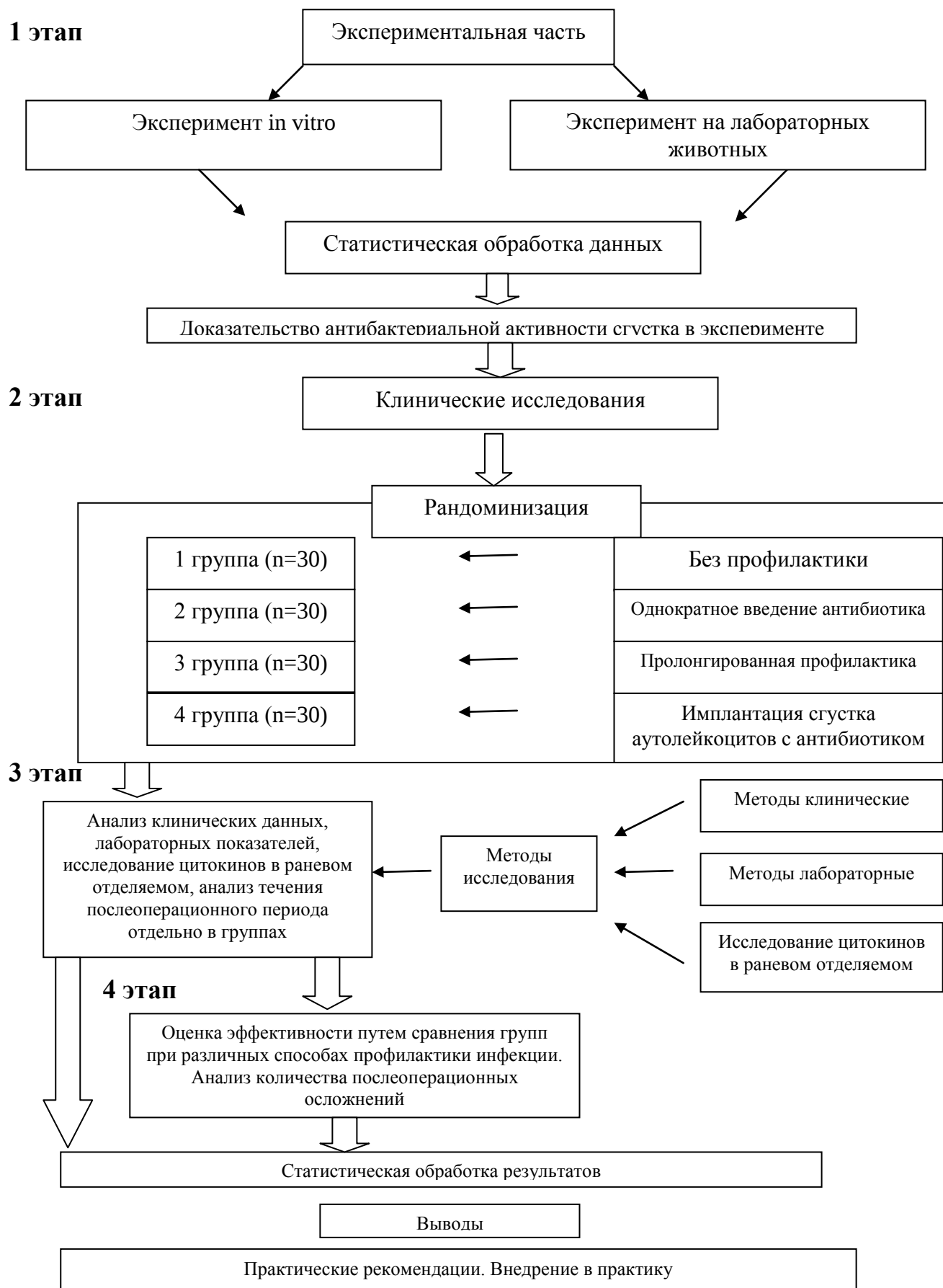


Рис. 1. Дизайн исследования

Дополнительно из каждого образца крови был приготовлен препарат, состоящий из плазматического сгустка без клеток и плазматического сгустка с клетками, инкубированными в полной среде без антибиотика.

Далее, в условиях бактериологической лаборатории, производился посев стандартного музейного штамма стафилококка (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) на агар в чашки Петри. После экспозиции в течение 40 мин. в агаре стерильным инструментом делали лунки 0,4 см в диаметре по четыре на каждую чашку Петри (рис. 1). В лунки помещались: 1) стандартный диск с цефазолином с заранее известной величиной зоны задержки роста для данного микроба; 2) плазматический сгусток с лейкоцитами, инкубированными с цефазолином; 3) плазматический сгусток с клетками без антибиотика; 4) плазматический сгусток без клеток (рис. 2). Учет результата проводили через 24 часа инкубации при температуре +37 °C.

Для эксперимента на животных использовали линейных мышей C57Bl6 возрастом 3 мес. и весом 18-20 гр. Экспериментальная работа проводилась в соответствии с методическими указаниями МЗ РФ «Деонтология медико-биологического эксперимента» и с «Правилами гуманного обращения с лабораторными животными». Под эфирным наркозом в подкожной клетчатке формировали полость, в которую устанавливали стерильный полипропиленовый сетчатый протез (Prolene Mesh Ethicon, поверхностная плотность 93 г/м², размер ячеек 0,56 – 0,63 мм) размером 1 x 1 см. В зависимости от группы наносились различные варианты плазматического сгустка.

В первой группе сравнения на сетчатый протез не наносилось каких-либо лекарственных препаратов. Во второй группе на сетчатый протез наносили только плазматический сгусток объемом 0,5 мл. Третьей группе на сетку наносили плазматический сгусток с клетками, инкубированными без антибиотика. И в четвертой основной группе имплантат представлял собой плазматический сгусток с лейкоцитами, инкубированными с цефазолином.

При выведении из эксперимента животных на 7-е сутки после операции (передозировкой наркоза) оценивалось качество заживления послеоперационной раны, наличие инфильтратов, количество осложнений, динамика веса животных.

Клинические исследования. В основу клинической работы положены результаты лечения 120 больных. Все больные были оперированы в плановом порядке в период с 2008 по 2010 гг. 60 % из них составили женщины и 40 % – мужчины. 77,5 % пациентов были трудоспособного возраста (до 60 лет) и 22,5 % – пожилого возраста (старше 60 лет). Критерием включения являлось наличие инцизионной вентральной грыжи по средней линии живота размерами от 10 до 15 см (MW3R0-1). Критериями исключения были: морбидное ожирение, декомпенсированные сопутствующие заболевания, наличие хронических очагов инфекции. Таким образом, 79,2 % наших пациентов имели нетяжелое хроническое заболевание в стадии компенсации или ремиссии (ASA II), 20,8 % не имели хронических заболеваний и каких-либо физиологических отклонений (ASA-1). В исследовании учитывались основные факторы риска развития инфекции в области оперативного вмешательства (табл. 1).

Таблица 1

Факторы риска развития ИОХВ

Факторы риска	1 группа	2 группа	3 группа	4 группа
1. Возраст > 60 (61-70 лет)	7 (5,8 %)	6 (5,0 %)	5 (4,16 %)	8 (6,6 %)
2. Избыток массы тела и ожирение (ИМТ > 30-40)	10 (33,0 %)	12 (39,6 %)	14 (46,2 %)	12(39,6 %)
3. Наличие и степень тяжести сопутствующих заболеваний	24 (22,0 %)	20 (20,0 %)	22 (18,3 %)	24(22,0 %)
4. Наличие у пациентов рецидивной грыжи	17 (56,6 %)	12 (39,6 %)	14(46,2 %)	13(24,9 %)
5. Перенесенные местные воспалительные заболевания	17 (56,6 %)	16 (53,3 %)	18 (60,8 %)	17 (56,6 %)

У 53,3 – 60 % пациентов риск развития инфекции в области хирургического разреза был достаточно высок на фоне основного фактора – имплантации сетчатого протеза в рану.

Всем больным проводилось стандартное общеклиническое обследование. Оперативное лечение осуществлялось на следующие сутки от момента госпитализации. Все операции выполнялись под эндотрахеальным наркозом.

Группы исследования. По способу проведения антибиотикопрофилактики все пациенты (N = 120) были разделены нами на 4 группы. Распределение проводилось методом случайной выборки.

1 группа (сравнения) – антибиотикопрофилактика не проводилась.

2 группа (сравнения) – «ультракороткая» антибиотикопрофилактика: однократное внутривенное введение 1г цефазолина за 40 минут до операции.

3 группа (сравнения) – «продолжительная» антибиотикопрофилактика в течение 5 дней (1,0г цефазолина внутримышечно 2 раза в сутки в день операции и 4 дня после).

4 группа (основная) – местная антибиотикопрофилактика путем интраоперационного введения в зону имплантации клеточного имплантата, состоящего из экстракорпорально связанных с цефазолином аутолейкоцитов пациента в количестве $45 - 50 \times 10^6/\text{л}$.

Методика приготовления и применения имплантата. За основу техники приготовления лейкоцитарного имплантата (ЛИ) была взята методика направленного транспорта, описанная Е. Д. Гольдбергом, А. М. Дыгай и В. П. Шаховым в 1992 году.

Накануне операции, после получения письменного согласия пациента, у него осуществляли забор крови из кубитальной вены в количестве 20 мл и раствор Олсфера (на 1 литр деионизированной воды – 8,0 г цитрата натрия, 4,2 г хлористого натрия, 20,5 г глюкозы, 8 мл 10 % лимонной кислоты) в соотношении 1 : 1. Кровь доставляли в лабораторию клеточных биотехнологий НИИ клинической иммунологии СО РАМН, г.Новосибирск (зав. лабораторией – д.м.н. Г. В. Селедцова).

Выделение лейкоцитов проводили путем центрифугирования при 1500 об/мин. на градиенте плотности фиккола 1,112 г/см². В предварительных экспериментах мы выяснили, что указанная плотность фиккола оптимальна для

получения как мононуклеарной, так и гранулоцитарной фракции периферической крови. Плазму крови собирали и хранили при температуре +4°C. Лейкоциты трехкратно отмывали от фиккола в культуральной среде RPMI-1640 (Sigma, USA) путем последовательного ресуспензирования и центрифугирования при 1500 об/мин. Подсчет клеток осуществляли в камере Горяева, жизнеспособность определяли в тесте с эритрозином. В среднем от одного больного (из 20 мл крови) получали $45 - 50 \times 10^6$ клеток. Соотношение мононуклеарные клетки/гранулоциты составляло 1:1. Жизнеспособность клеток составила 95 – 98 %. Все работы проводили в асептических условиях в ламинарном боксе 2-го класса защиты (ESCO, Singapore).

Полученные лейкоциты ресуспензировали в 100 мл полной культуральной среды на основе RPMI-1640 с добавлением L-глутамина 10,25 мМоль/л и α - меркаптэтанола 10 – 4 мМоль\л (все реактивы Sigma-Aldrich, USA) и 10 % аутоплазмы пациента. В культуральную среду добавляли антибиотик – цефазолин, в концентрации 1,0 г на 100 мл (Sandoz, GmbH Austria). Суспензию клеток помещали в культуральную чашку с площадью дна 150 см² (Corning, USA), культивирование проводили в CO₂-инкубаторе (VWR Scientific, USA) при 95 % влажности, 5 % концентрации углекислого газа и температуре 37 °C в течение 16 часов.

Снятие культивированных с антибиотиком лейкоцитов осуществляли механическим способом на магнитной мешалке после предварительной экспозиции культуры при 4 °C на льду в течение часа. Клетки осаждали центрифугированием при 1500 об/мин и ресуспензировали в 4,5 мл аутоплазмы с раствором Олсфера. При этом полученное количество клеток ($45 - 50 \times 10^6$) и соотношение мононуклеарные клетки/гранулоциты (1 : 1) соответствовало данным до культивирования. Инициацию плазматического сгустка проводили добавлением 500 мкл 2 % хлористого кальция.

После фиксации сетчатого протеза на операции клеточный имплантат наносили поверх сетки стерильным шпателем. Обработывались также и края хирургической раны (рис. 2 и 3).

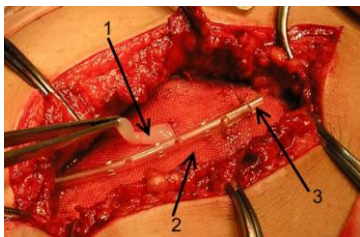


Рис. 2. Нанесение лейкоцитарного имплантата на сетчатый протез (1-лейкоцитарный имплантат; 2-сетчатый протез; 3-дренажная трубка).

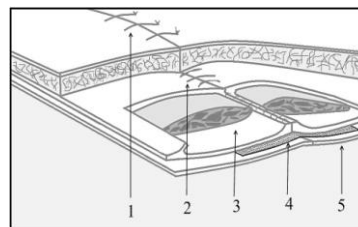


Рис. 3. Положение сетчатого протеза в брюшной стенке (1-швы на коже; 2-ушитый апоневроз прямых мышц; 3-футляр прямой мышцы живота; 4-сетчатый протез; 5-брюшина).

Техника оперативного вмешательства. Всем больным была выполнена пластика с имплантацией сетчатого полипропиленового протеза Prolene Mesh (Ethicon), поверхностная плотность 93 г/м², размер ячеек 0,56 - 0,63 мм. Фиксацию протеза производили аналогичной нитью Prolene 2-0. Расположение протеза было в позиции «sublay». Дренажирование раны по Редону. Ненаркотические анальгетики 2 раза в сутки. Активное дренирование осуществляли 3 суток. Перевязки ежедневно. Снятие швов на 7 – 10 суток.

Изучавшиеся результаты и их статистическая обработка. В экспериментальной части работы производилась оценка бактерицидной эффективности ЛИ. В эксперименте на животных оценивалось течение раневого процесса в разных группах.

У больных в сравниваемых группах фиксировали наличие или отсутствие признаков ИОХВ по критериям CDC (центр по контролю и профилактике заболеваний США): термометрия, частота пульса, выраженность и продолжительность болевого синдрома (шкала боли NRS), наличие и размер пальпируемого инфильтрата, сроки пребывания, лабораторные показатели и исследование провоспалительных и регенераторных цитокинов раневого секрета.

Полученные результаты обработаны с использованием методов вариационной статистики. Распределение показателей в группах проверено на нормальность с использованием критерия Шапиро-Уилка. Значения представлены в виде $M \pm \sigma$ (M – среднее значение показателей в исследуемой

группе; σ - среднеквадратическое отклонение). Для оценки достоверности различий показателей в группах использовали t-критерий Стьюдента, для множественных сравнений использовался t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони. Для анализа качественных показателей были использованы критерий χ^2 и точный критерий Фишера. При $p \leq 0,05$ различия между группами рассматривались как статистически достоверные.

При обработке данных использовали пакет программного обеспечения «Statistica 6».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результат изучения ЭОАЛ *in vitro* позволил сделать заключение – использование лейкоцитсодержащего имплантата с цефазолином может применяться для эффективной борьбы с патогенной микрофлорой, являющейся источником ИОХВ.

В эксперименте *in vitro* во всех чашках наблюдалась однотипная картина. Показатели задержки роста *Staphylococcus aureus* со стандартным диском с цефазолином, выраженные в мм, составили в среднем $29,3 \pm 4$ мм (табл. 2).

Таблица 2

Оценка зоны задержки роста *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 через 24 часа инкубации ($M \pm \sigma$)

Показатели	Группы исследования			
	1 группа Диск с цефазолином	2 группа Сгусток из лейкоцитов с цефазолином	3 группа Сгусток из лейкоцитов	4 группа Сгусток из плазмы
Исходный размер материала (мм)	5 ± 1	5 ± 1	5 ± 1	5 ± 1
Задержка роста стафилококка (мм)	$29,3 \pm 4$	43 ± 6^1	$13,9 \pm 4^1$	$11,7 \pm 2^1$

Примечание: ¹ различия статистически достоверны при сравнении с данными 1 группы ($p < 0,05$).

Зона задержки роста микроорганизмов вокруг плазматического сгустка с лейкоцитами, инкубированными с цефазолином, была наибольшей, и по этому показателю 2-я группа статистически значимо отличалась от остальных ($p < 0,05$).

В эксперименте на животных – линейных мышах возрастом 3 месяца – смоделирована методика имплантации ЭОАЛ в условиях установленного полипропиленового сетчатого протеза в брюшную стенку.

Таблица 3

Инфильтрация тканей вокруг сетчатого протеза в послеоперационном периоде (в мм²) ($M \pm \sigma$)

Сутки после операции	1 группа (без какого-либо препарата)	2 группа (плазматический сгусток)	3 группа (плазматический сгусток +лейкоциты)	4 группа (плазматический сгусток+лейкоциты с антибиотиком)
2-е	-	-	-	-
3-и	120 $\pm$ 24	225 $\pm$ 17 ¹	120 $\pm$ 11	80 $\pm$ 14 ¹
4-е	196 $\pm$ 8	255 $\pm$ 12 ¹	132 $\pm$ 13 ¹¹	64 $\pm$ 9 ¹
5-е	240 $\pm$ 12	195 $\pm$ 21 ¹	144 $\pm$ 9 ¹	40 $\pm$ 11 ¹
6-е	288 $\pm$ 9	195 $\pm$ 19	168 $\pm$ 12 ¹	40 $\pm$ 12 ¹
7-е	272 $\pm$ 7	210 $\pm$ 18 ¹	168 $\pm$ 7 ¹	40 $\pm$ 7 ¹

Примечание: ¹ различия статистически достоверны при сравнении с данными 1 группы ($p < 0,05$).

В четвертой группе обнаружены самые низкие показатели инфильтрации тканей. На третьи сутки размер инфильтрата составил 80 мм, далее к пятым суткам снизился до 40 мм, после чего оставался неизменным (табл. 3).

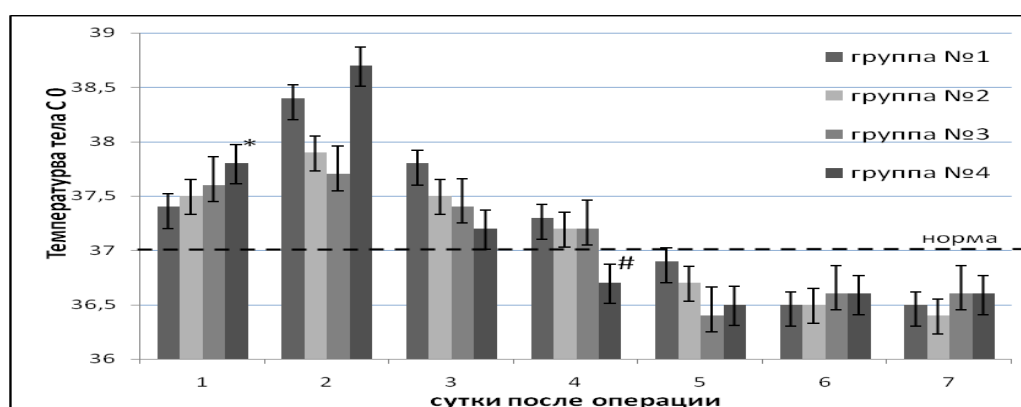
Таким образом, использование лейкоцитсодержащего имплантата с цефазолином может применяться для эффективной борьбы с патогенной микрофлорой, являющейся источником ИОХВ, и приводит к более благоприятному течению послеоперационного периода и снижению воспалительной инфильтрации в ране у экспериментальных животных.

В клинической части работы проводилась оценка исходных и конечных клинико-лабораторных показателей в каждой группе, а также произведено сравнение показателей течения воспалительной реакции в ближайшем послеоперационном периоде у пациентов разных групп.

Во всех группах до операции болевой синдром определялся как отсутствующий. В 1-й и 2-й группах показатель составил 6,25 условных единиц по шкале NRS. Группа с проведением «продолжительной» антибиотикопрофилактики показала «средний» болевой синдром, на 9,9 % меньший, чем в первых двух группах. Пациенты в основной группе показали

наименьший болевой синдром – 4,9 балла, что на 22,6 % ниже показателя первых двух групп.

При оценке изменения исходно нормальной температуры тела видно, что во всех группах имела разная динамическая картина (рис. 4). Изменения в первой группе характеризовались подъемом до субфебрильных цифр на первые сутки, лихорадкой на третьи и постепенным снижением с возвращением к норме на пятые сутки. Группы с проведением парентеральной антибиотикопрофилактики показали схожие друг с другом результаты: движение показателя от субфебрилитета на первые сутки до нормальных цифр к пятым суткам. В группе с имплантационным способом антибиотикопрофилактики на первые сутки выявляли подъем температуры тела до почти фебрильных цифр, на вторые сутки отмечали четкую фебрильную реакцию организма с дальнейшим прогрессивным снижением температуры тела до нормальных цифр к четвертым суткам, что на сутки раньше чем в остальных группах. Пирогенная реакция по нашему мнению была связана с началом работы лейкоцитарного имплантата и «включением» иммунологических механизмов борьбы с инфекцией в ране. Однако, это требовало подтверждения другими показателями воспалительной реакции, о чем будет сказано далее.



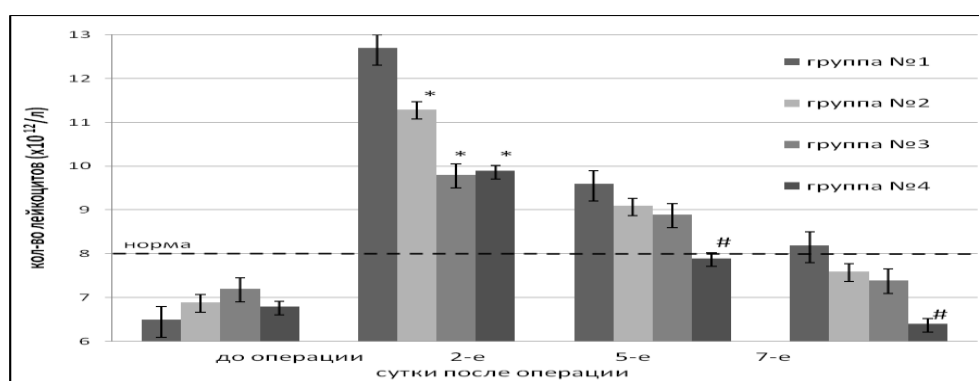
Примечания: * различия статистически достоверны при сравнении с данными первой группы ($p < 0,05$); # различия статистически достоверны при сравнении с данными других групп в те же сутки после операции ($p < 0,05$);

Рис. 4. Динамика температуры тела в послеоперационном периоде
($N = 120$) ($M \pm \sigma$)

В первые сутки после операции максимальная частота пульса

определялась у первой группы. Исходная частота пульса до операции во всех группах укладывалась в значения от 60–80 ударов в минуту. В четвертой группе, в отличие от остальных групп, пик роста отмечен на вторые сутки. Однако в дальнейшем частота пульса быстро снижалась с нормализацией на пятые сутки. Пик на вторые сутки мы связываем с пирогенной реакцией организма в этот период и четкой связью лихорадки и тахикардии. Нормализацию показателя на пятые сутки обнаружили у второй и четвертой групп. Другие группы пришли к нему на сутки позже.

Исходные данные соответствовали норме $6,0 - 8,0 \times 10^{12}/л$ во всех группах. Максимальный лейкоцитоз во всех группах выявляли на вторые сутки после операции. Самый высокий показатель среди всех был в 1-й группе сравнения – $12,7 \pm 0,4 \times 10^{12}/л$. Его рост по сравнению с исходным показателем составил 95,3 %. В 3-й группе максимальный рост показателя составил 36 % – это лучший показатель. В 4-й (основной) группе – 45,5 %, а во 2-й группе (ультракороткая профилактика) – 63,7 %. Самую раннюю нормализацию показателя лейкоцитов крови, на пятые сутки, наблюдали у 4-й группы. Все остальные группы показали нормализацию лейкоцитов крови к седьмым суткам. В 1-й группе сравнения и на седьмые сутки показатель был нормальным не у всех пациентов (рис. 5).



Примечания: * различия статистически достоверны при сравнении с данными 1-й группы ($p < 0,05$); # различия статистически достоверны при сравнении с данными остальных групп ($p < 0,05$).

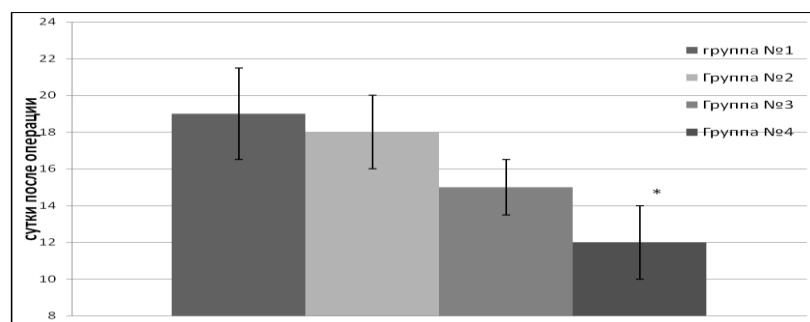
Рис. 5. Динамика изменения лейкоцитов крови в послеоперационном периоде (N = 120) ($M \pm \sigma$)

Максимальное значение СОЭ во всех группах объяснимо повышалось на

вторые сутки после операции. Сравнивая среднее минимальное значение на вторые сутки (4-я группа) 17 мм/час и максимальное значение (1-я группа) 36 мм/час – разница составила 112 %. Группы с парентеральной антибиотикопрофилактикой в эти сроки также имели СОЭ большую, чем у 4-й группы. Ускорение СОЭ говорит об уклонении в очаг воспаления белковых субстанций, в норме способствующих удержанию эритроцитов крови во взвешенном состоянии. Меньший результат роста СОЭ в 4-й группе говорит о меньшей трате белка для реализации гуморального и клеточного иммунитета ввиду более скорого и более эффективного начала работы лейкоцитарного имплантата в ране.

Нарастание пальпируемой инфильтрации тканей было ярко выражено в 1-й группе. Максимальное значение площади инфильтрата на четвертые сутки составило 240 ± 11 см. Минимальное значение в эти сутки было в группе с имплантационной профилактикой (4-я группа), значение инфильтрата в ней составило 42 ± 8 см, что меньше в 5,5 раз. Группы с парентеральной антибиотикопрофилактикой имели площадь инфильтрата в среднем в 2,4 раза меньше, чем в 1-й группе.

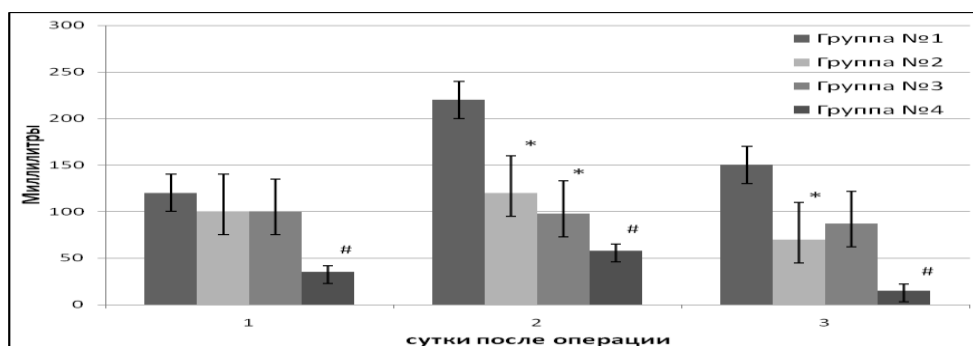
Сроки полного рассасывания инфильтрата в 1-й группе и группах с парентеральной антибиотикопрофилактикой различались не достоверно. Исчезновение инфильтрата в 4-й группе происходило в среднем на 12-е сутки, что на 37,8 % быстрее, чем в 1-й группе, где исчезновение инфильтрата в среднем констатировали на 19-е сутки (рис 6).



Примечание: * различия статистически достоверны при сравнении с данными 1-й группы (сравнения) ($p < 0,05$).

Рис. 6. Сроки полной ликвидации пальпируемого инфильтрата в послеоперационном периоде (N = 120) ($M \pm \sigma$)

Характер раневого отделяемого во всех группах имел изначально серозно-геморрагический характер, постепенно превращающийся в серозный с минимальным преобладанием геморрагического компонента. Среднее количество отделяемого за весь период лечения в 1-й группе составило 163 мл, во 2-й группе – 96,7 мл, в 3-й – 95 мл, а в 4 –й (основной) группе– 36 мл, что меньше, чем в 1-й группе сравнения на 78,9 %. Меньшая экссудация нами объясняется более эффективной работой факторов клеточного и гуморального иммунитета в ране и отсутствием необходимости гиперэкссудации для выведения с жидкостью токсичных фрагментов процесса воспаления (рис. 7).



Примечания: * различия статистически достоверны при сравнении с данными 1-й группы ($p < 0,05$); # различия статистически достоверны при сравнении с данными остальных групп ($p < 0,05$);

Рис. 7. Количество раневого отделяемого в послеоперационном периоде (N = 120) ($M \pm \sigma$)

Иммунологические исследования цитокинов крови. Достоверное (на 9,7 % по сравнению с 1-й группой) повышенное содержание ИЛ-6 в раневом отделяемом через 24 часа способствовало более выраженному неспецифическому иммунному ответу за счет хемотаксиса нейтрофилов, а также более полноценным процессам регенерации (рис. 9). Появление ИЛ-4 через 24 часа, что является благоприятным фактором, способствующим раннему включению гуморального звена иммунитета и более ранней и полноценной элиминации бактериальной микрофлоры раны, было выражено только в четвертой группе и превосходило другие группы в 5,5 – 6 раз (рис. 8).

Достоверное (на 39,5 % по сравнению с 1-й группой) увеличение ИФН-гамма в раневом отделяемом группы больных с трансплантацией

плазматического сгустка с лейкоцитами вполне логично объясняется имплантацией активированных иммунцитов. Это приводило к более раннему началу иммунного процесса (рис. 10).

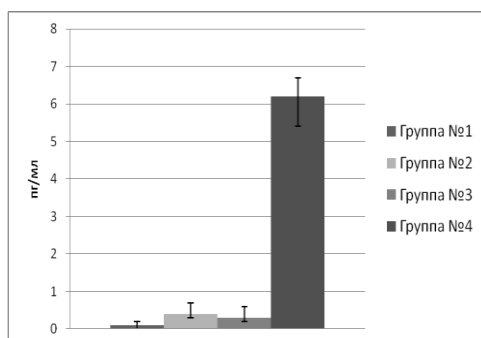


Рис. 8. Содержание ИЛ-4 в раневом отделяемом через 24 часа после операции (N = 120) ($M \pm \sigma$)

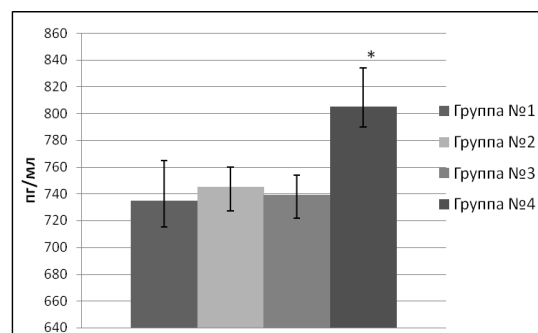
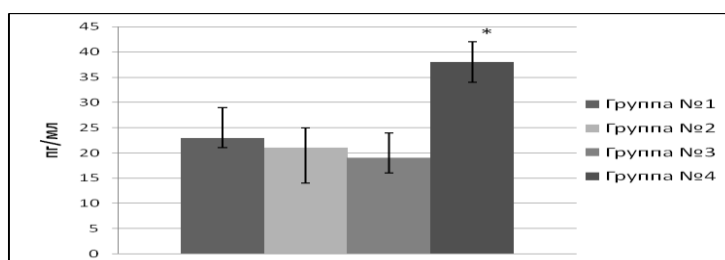


Рис. 9. Содержание ИЛ-6 в раневом отделяемом через 24 часа после операции (N = 120) ($M \pm \sigma$)



Примечание: * различия статистически достоверны при сравнении с данными остальных групп ($p < 0,05$)

Рис. 10. Содержание ИФН-гамма в раневом отделяемом через 24 часа после операции (N = 120) ($M \pm \sigma$)

Закономерным видится общий результат лечения в 4-й группе. Общее количество раневых осложнений в ней на 46,7 – 53,4 % меньше, чем в других группах. Локального скопления экстравазата (серома) было на 78,2 % меньше, чем в 1-й группе, на 71,5 % – чем во 2-й группе и на 81,8 % – чем в 3-й группе. Отсутствовали случаи нагноений и рецидивов грыжи (табл. 4).

Структура послеоперационных осложнений в области хирургического разреза (срок наблюдения до 12 месяцев)

Осложнения		1 группа (n = 30)		2 группа (n = 30)		3 группа (n = 30)		4 группа (n = 30)	
		абс	%	абс	%	абс	%	абс	%
Резистентный воспалительный инфильтрат передней брюшной стенки, требовавший ревизии		2	6,7	2	6,7	1	3,3	1	3,3
Задержка экссудата в области операции (серома), пункционное удаление		5	16,6	4	13,3	4	13,3	3	10
Нагноение послеоперационной раны передней брюшной стенки	Подкожной клетчатки	1	3,3	1	3,3	–	–	–	–
	Подапоневротического пространства	2	6,7	–	–	1	3,3	–	–
	Предбрюшинный абсцесс	–	–	–	–	1	3,3	–	–
Лигатурный свищ подкожной клетчатки, апоневроза		2	6,7	3	10	2	6,7	1	3,3
Свищ, связанный с сетчатым протезом		2	6,7	–	–	1	3,3	–	–
Гранулема		1	3,3	–	–	–	–	–	–
Всего:		15	50,0	10	33,3	11	36,6	5	16,6
Рецидивы грыжи (до 12 мес.)		4	13,2	2	6,6	3	9,9	-	-

ВЫВОДЫ

1. Лейкоцитарный имплантат с антибиотиком (ЭОАЛ) задерживает рост *Staphilococcus aureus in vitro* на 31,9 % ($p < 0,05$) больше по сравнению со стандартным диском с цефазолином.

2. Использование лейкоцитарного сгустка с антибиотиком при имплантации ПСП приводит у экспериментальных животных к более благоприятному течению послеоперационного периода, что выражается в снижении воспалительной инфильтрации в ране по сравнению с контролем в 5 раз.

3. 3.1. В группах с применением парентеральной АБП отмечено более благоприятное течение послеоперационного периода по сравнению с 1-й группой (сравнения) (снижение лейкоцитоза на 36 %, уменьшение в 2,4 раза площади пальпируемого инфильтрата, более ранние сроки его полной

ликвидации, а также на 40,7 % снижение количества раневого отделяемого). Однако, статистически достоверных различий между группами с «ультракороткой» и «продолжительной» антибиотикопрофилактикой не выявлено.

3.2. При сравнении течения ближайшего послеоперационного периода при грыжесечениях по поводу ИВГ с использованием сетчатых протезов выявлено, что наилучшие результаты показал метод применения экстракорпорально обработанных антибиотиком аутолейкоцитов. Это подтверждается более быстрым купированием клинко-лабораторных проявлений воспалительного процесса, снижением роста лейкоцитоза крови на 49,8 % ($p < 0,05$), снижением ЛИИ в 4,5 раза, снижением роста СОЭ на 112 % ($p < 0,05$) по сравнению с 1-й группой (сравнения), ускорением нормализации температуры тела на 20 % ($p < 0,05$).

4. Иммунологическое исследование содержания провоспалительных цитокинов в раневом отделяемом при использовании ЭОАЛ в качестве АБП выявило увеличение ИФН-гамма на 39,5 % ($p < 0,05$), ИЛ-6 на 9,7 % ($p < 0,05$), ИЛ-4 в 5,5 - 6 ($p < 0,05$) раз по сравнению с 1-й группой (сравнения). Данные показатели говорят о более раннем включении гуморального звена иммунитета и более выраженном неспецифическом иммунном ответе.

5. Использование лейкоцитарного сгустка с антибиотиком при имплантации ПСП у больных с инцизионными вентральными грыжами приводит к выраженному снижению воспалительного процесса в ране, что выражается в уменьшении количества раневых осложнений на 46,7 %, снижение объема скопления экстравазата на 71,5 %, уменьшение на 22,6 % среднего болевого синдрома, уменьшение пальпируемого инфильтрата в 5,5 раз со сроками его ликвидации на 3 – 7 суток раньше, отсутствием случаев нагноений и рецидива грыж.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. «Продолжительная» антибиотикопрофилактика в послеоперационном периоде не дает преимуществ и не является

целесообразной.

2. Наиболее оптимальным способом профилактики инфекции при протезирующих пластиках послеоперационной вентральной грыжи с использованием полипропиленового сетчатого протеза является имплантация экстракорпорально обработанных антибиотиком аутолейкоцитов ($45 - 50 \times 10^6$ аутолейкоцитов экстракорпорально обработанных цефазолином).

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Кузнецов А. В., Белгородцев С. Н., **Кузнецов Ю. В.**, Селедцова Г. В. Возможность использования лейкоцитарного имплантата в герниологии // **Вестник НГУ. Серия: Биология, клиническая медицина.** – 2009. – Том 7, выпуск 3. – С. 104-109.

2. Кузнецов А. В., Белгородцев С. Н., **Кузнецов Ю. В.** Антибактериальная активность экстракорпорально приготовленного лейкогустка крови в эксперименте *in vitro* // **Фундаментальные проблемы лимфологии и клеточной биологии : тез. докл. международной конференции по лимфологии и клеточной биологии.** – Новосибирск, 2008. – С. 208.

3. **Кузнецов Ю. В.** Влияние лейкоцитарного имплантата на воспаление и регенерацию брюшной стенки при использовании полипропиленовых сетчатых протезов у больных с послеоперационными вентральными грыжами // **Третий съезд хирургов Сибири и Дальнего Востока : тезисы докладов.** – Томск, 2009. – С. 256.

4. **Кузнецов Ю. В.** Лейкоцитарный имплантат как способ профилактики инфекции при пластике послеоперационных вентральных грыж полипропиленовой сеткой // **Третий съезд хирургов Сибири и Дальнего Востока : тезисы докладов.** – Томск, 2009. – С. 99.

5. **Кузнецов Ю. В.**, Добряков Б. С., Федин Е. Н., Кузнецов А. В. Экстракорпоральная антибиотикоиммунокоррекция как профилактика инфекции в области хирургического вмешательства при использовании полипропиленовых сетчатых протезов у больных с послеоперационными вентральными грыжами // **Современное состояние и перспективы герниологии : тезисы докладов межрегиональной конференции по герниологии.** – Калининград, 2008. – С. 24.