

Оценка параметров операционного стресса после лапароскопических и открытых резекций печени

Д. Н. Панченков¹, Г. Б. Алексанян^{1, 2}, Н. К. Ахматова³, М. Г. Ефанов⁴, Р. Б. Алиханов⁴, Ю. В. Иванов^{1, 2}

¹ Московский государственный медико-стоматологический университет имени А. И. Евдокимова Минздрава России

² Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА России, г. Москва

³ Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И. И. Мечникова, г. Москва

⁴ Московский клинический научно-практический центр Департамента здравоохранения города Москвы



Оригинальная
статья

Цель исследования: сравнительный анализ параметров операционного стресса при выполнении лапароскопических (ЛРП) и открытых резекций печени (ОРП).

Дизайн: рандомизированное исследование с параллельным распределением.

Материалы и методы. В исследование были включены 40 кроликов породы шиншилла в эксперименте и 38 пациентов на клиническом этапе. Испытуемых разделили на две группы: основную (ЛРП) и контрольную (ОРП). В каждой группе проводились оперативные вмешательства в объеме «малых» (до 3 сегментов и атипичные) или обширных (гемигепатэктомии) резекций печени.

Забор крови осуществляли перед операцией, а также через 6 часов, 24 часа и на 7-е сутки после нее. Оценивались показатели врожденного иммунитета (фагоцитарная, цитотоксическая и пролиферативная активность лейкоцитов, субпопуляции лейкоцитов, Толл-подобные рецепторы (TLR), белки теплового шока (БТШ), цитокины).

Результаты. В эксперименте показатели фагоцитарной, цитотоксической и пролиферативной активности были выше в группе ОРП.

В клиническом исследовании уровни лейкоцитов и их субпопуляций в обеих группах поэтапно повышались и достигали дооперационных значений на 7-е сутки после операции. Уровни цитокинов и TLR свидетельствовали о большей реактивности при обширных ОРП. Экспрессия БТШ при ОРП была достоверно выше, чем при ЛРП.

Заключение. ЛРП имеют преимущество перед ОРП, что подтверждается лабораторными и клиническими исследованиями врожденного иммунитета. В сравнении с ЛРП лапаротомия при резекции печени у пациентов приводит к большему повышению показателей иммунного ответа, активации эффекторов врожденного и приобретенного иммунитета.

Ключевые слова: резекция печени, лапароскопия, иммунный ответ, операционный стресс.

Assessment of Surgical Stress Parameters after Laparoscopic and Open Liver Resection

D. N. Panchenkov¹, G. B. Aleksanyan^{1, 2}, N. K. Akhmatova³, M. G. Yefanov⁴, R. B. Alikhanov⁴, Yu. V. Ivanov^{1, 2}

¹ A. I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Russian Ministry of Health

² Federal Clinical Research Center for Specialized Medical Care and Medical Technologies, Russian Federal Medical and Biological Agency, Moscow

³ I. I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow

⁴ Moscow Clinical Scientific and Practical Center, Moscow City Department of Health



Original
Paper

Study Objective: Comparative analysis of surgical stress parameters after laparoscopic liver resection (LLR) and open liver resection (OLR).

Study Design: This was a randomized parallel-group study.

Materials and Methods: Forty chinchilla rabbits were operated on in the experimental stage, and 38 patients underwent surgery in the clinical stage. These animals and patients were divided into groups of those who had laparoscopic surgery (main groups) and those who had open surgery (control groups). In each group, minor (segmental [up to three segments] or atypical) or major (hemihепatectomy) liver resection was performed.

Blood samples were collected before surgery, at 6 and 24 hours post-surgery, and on day 7 post-surgery. The following parameters of innate immunity were evaluated: phagocytic, cytotoxic, and proliferative activity of WBC, WBC subpopulations, Toll-like receptors (TLR), heat shock proteins (HSP), and cytokines.

Study Results: In the experimental stage, phagocytic, cytotoxic, and proliferative activity was higher in the OLR group.

In the clinical stage, both groups showed a gradual increase in WBC and WBC subpopulations up to their pre-surgery levels on day 7 after surgery. Cytokines and TLR levels suggested higher reactivity following major OLR. Expression of HSP was significantly higher after OLR than after LLR.

Conclusion: LLR has certain advantages over OLR as confirmed by laboratory and clinical measurements of innate immunity. Compared to LLR, open liver resection causes a more marked increase in parameters of immune response and a more significant activation of innate and acquired immunity effectors.

Keywords: liver resection, laparoscopy, immune response, surgical stress.

С конца 90-х годов прошлого века лапароскопическая хирургия является методом выбора при большинстве вмешательств в хирургии печени, число которых возрастает ежегодно. Результаты последних исследований позволяют предположить, что для лапароскопических операций на

печени нет технических ограничений. На Второй международной согласительной конференции по лапароскопическим резекциям печени (ЛРП) (Япония, 2014) экспертным советом сформулированы рекомендации по дальнейшему развитию минимально инвазивной хирургии печени. На основании

Алексанян Гаяне Бабкеновна — научный сотрудник лаборатории минимально инвазивной хирургии Научно-исследовательского медико-стоматологического института ФГБОУ ВО МГМСУ им. А. И. Евдокимова Минздрава России; врач-хирург хирургического отделения ФГБУ ФНКЦ ФМБА России. 115682, г. Москва, Ореховый бул., д. 28. E-mail: gayane.aleksanyan@gmail.com (Окончание на с. 70.)

проведенных исследований сделаны выводы в отношении предоперационных обследований, контроля кровотечения, методов диссекции, анатомических подходов и применяемого оборудования, а также структуры обучения специалистов. Согласно заключению, проведение «малых» ЛРП вошло в мировую стандартную практику. Обширные ЛРП все еще относятся к инновационным методам в стадии разработки, однако рекомендовано продолжать их поэтапное внедрение [26].

Применение лапароскопии в гепатобилиарной хирургии ограничивается не только анатомическими особенностями, богатой васкуляризацией, высокой стоимостью оборудования, но и тяжелыми инфекционными осложнениями в послеоперационном периоде [1, 2, 5–10]. Иммунные реакции после хирургического вмешательства могут иметь решающее значение в патогенезе послеоперационных осложнений и для потенциальной долгосрочной выживаемости. Иммунологический статус является достоверным показателем выраженности операционного стресса при сравнении резекций печени, выполняемых лапароскопическим и традиционным открытым доступом [3, 4, 11–25].

Цель исследования: проведение сравнительного анализа параметров операционного стресса при выполнении открытых резекций печени (ОРП) и ЛРП различного объема в эксперименте и клинической практике.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось на экспериментальной базе (виварий) Московского государственного медико-стоматологического университета им. А. И. Евдокимова Минздрава России, отделения хирургии печени и поджелудочной железы Московского клинического научно-практического центра Департамента здравоохранения г. Москвы и хирургического отделения Федерального научно-клинического центра специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА России в период 2012–2015 гг.

Критерий включения: пациенты с образованиями печени от 3 до 8 см в диаметре. Критерии исключения: невозможность дать письменное информированное согласие; образования печени более 8 см в диаметре; наличие внепеченочных метастазов, исключая резектабельные метастазы в легких и надпочечниках; радикально неизлечимое заболевание.

Исследование имело экспериментальную и клиническую составляющую. В экспериментальной части объектами изучения были 40 кроликов, на клиническом этапе обследовали 38 пациентов с различными очаговыми патологиями печени (доброкачественной и злокачественной природы). На каждом этапе оценивали две группы: *основную* (ЛРП) и *контрольную* (ОРП). Выполняли резекции печени малого объема (до 3 сегментов и атипичные), а также обширные резекции (гемигепатэктомии).

Экспериментальное исследование включало кроликов породы шиншилла обоих полов весом до 3 кг.

В предоперационном периоде выполнялся забор крови из вены ушной раковины по 5 мл в гепаринизированные и негепаринизированные стерильные пробирки для сравнения показателей иммунологического статуса. Забор крови производили путем венесекции.

Оперативное вмешательство выполняли под общей анестезией, зафиксировав животное на операционном столе. В контрольной группе после подготовки операционного поля в положении на спине делали косой разрез передней брюшной стенки по срединной линии, затем параллельно правой реберной дуге и выполняли резекцию левой доли печени или гемигепатэктомии. Гемостаз осуществлялся при помощи биполярной коагуляции. После извлечения резецированного фрагмента послеоперационная рана ушивалась послойно.

В основной группе производили лапароскопические резекции левой доли печени при использовании трех операционных троакаров по стандартной методике с созданием пневмоперитонеума, при этом для рассечения паренхимы применяли пятимиллиметровый инструмент LigaSure (Covidien Medtronic, США). После извлечения резецированного фрагмента послеоперационные раны ушивались послойно.

Заключительный этап состоял из трехкратных последовательных заборов крови (по вышеприведенной методике) через 4–6 часов, 24 часа и на 7-е сутки после вмешательства соответственно в гепаринизированные и негепаринизированные стерильные пробирки с последующей лабораторной диагностикой.

Клиническая часть исследования заключалась в сравнительной оценке параметров операционного стресса у пациентов, перенесших резекции печени открытым и лапароскопическим доступом, по схеме, ранее отработанной в эксперименте.

Пациентам с образованиями, удовлетворявшими критерии включения, в условиях стационара и после осуществления необходимого объема обследований проводили хирургическое лечение. Оперативные вмешательства выполнялись под общей анестезией. Выбор оперативного доступа к печени был продиктован локализацией и характером патологического процесса, а также объемом предполагаемого оперативного вмешательства. Применялись преимущественно трансабдоминальные оперативные доступы. Основные моменты операции: перевязка сосудов удаляемой части паренхимы в воротах печени; перевязка печеночных вен в кавальных воротах печени; рассечение печени по междолевым щелям, ограничивающим резецируемую часть; окончательное выделение и удаление резецируемой части печени и закрытие ее раневой поверхности.

Забор крови выполняли по ранее отработанной методике в предоперационный период, через 6 часов, 24 часа

Алиханов Руслан Богданович — к. м. н., заведующий отделением хирургии печени и поджелудочной железы ГБУЗ МКНЦ ДЗМ. 111123, г. Москва, ш. Энтузиастов, д. 86. E-mail: r.alikhanov@mknc.ru

Ахматова Нелли Кимовна — д. м. н., заведующая лабораторией механизмов регуляции иммунитета ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова. 105064, г. Москва, Малый Казенный пер., д. 5а. E-mail: anelly@mail.ru

Ефанов Михаил Германович — д. м. н., руководитель отдела гепатопанкреатобилиарной хирургии ГБУЗ МКНЦ ДЗМ. 111123, г. Москва, ш. Энтузиастов, д. 86. E-mail: m.efanov@mknc.ru

Иванов Юрий Викторович — д. м. н., профессор, заведующий хирургическим отделением ФГБУ ФНКЦ ФМБА России; профессор кафедры эндоскопической хирургии факультета дополнительного профессионального образования ФГБОУ ВО МГМСУ им. А. И. Евдокимова Минздрава России. 115682, г. Москва, Ореховый бул., д. 28. E-mail: ivanovkb83@yandex.ru

Панченков Дмитрий Николаевич — д. м. н., профессор, заведующий лабораторией минимально инвазивной хирургии Научно-исследовательского медико-стоматологического института ФГБОУ ВО МГМСУ им. А. И. Евдокимова Минздрава России. 127473, г. Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1. E-mail: dpanchenkov@mail.ru (Окончание. Начало см. на с. 69.)

и на 7-е сутки после вмешательства в гепаринизированные и негепаринизированные стерильные пробирки с последующей лабораторной диагностикой.

Методы исследования

На **экспериментальном этапе** оценивались показатели цитотоксической, пролиферативной и фагоцитарной активности (врожденного иммунитета).

При определении *фагоцитарной активности* мононуклеарных лейкоцитов периферической крови (МЛПК) кроликов микробную культуру *Streptococcus pneumoniae* серотипа 14 убивали нагреванием и окрашивали флуоресцеинизотиоцианатом (ФИТЦ). Цельную кровь смешивали с бактериями в соотношении 1 : 1, инкубировали 20 минут при 37 °С, отмывали центрифугированием (250 г, 10 минут) в среде RPMI-1640 («НПП "ПанЭко"», Россия). Затем определяли поглотительную способность макрофагов на проточном цитометре Cytomics FC 500 (Beckman Coulter, Inc., США). Гейт (окно) клеточной популяции устанавливали на основе комбинации прямого и бокового светорассеяния и размера клеток. При учете результатов подсчитывали 10 000 клеток в гейте.

Для оценки *пролиферативной активности* МЛПК кроликов был использован морфологический метод — реакция бласттрансформации лимфоцитов традиционным способом. Суспензию МЛПК в обогащенной среде RPMI-1640 (с 10%-ной фетальной сывороткой) вносили в 96-луночные планшеты в количестве 10×10^3 клеток на лунку и инкубировали в течение 3 суток в стандартных условиях культивирования. По окончании 72-часовой инкубации часть клеточной суспензии собирали в пробирки, осаждали центрифугированием (200 г, 10 минут), отмывали 10%-ной уксусной кислотой и снова центрифугировали. Осадок ресуспендировали в 20 мкл метанола и переносили на предметные стекла. Препараты высушивали и окрашивали по Романовскому. Учет результатов проводили в световом микроскопе JENAMED2 (Carl Zeiss Jena, ФРГ) путем подсчета процента бластных клеток при просмотривании 300–500 клеток. Итог выражали индексом стимуляции, представляющим собой отношение процента бластных клеток в стимулированной митогеном и исследуемыми препаратами культуре лимфоцитов к проценту спонтанных бластных форм в контрольной культуре без добавления митогена.

Для выявления *цитотоксической активности* МЛПК использовали тест восстановления 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия бромид (МТТ), в основе которого лежит способность живых клеток превращать растворимый желтый бромид МТТ в нерастворимые пурпурно-синие внутриклеточные кристаллы МТТ-формаза. Цитотоксическую активность МЛПК определяли на линии опухолевых клеток К562. Опухолевые клетки (3×10^4 в 1 мл) инкубировали в культуральной среде с МЛПК в соотношениях 1 : 10, 1 : 5 и 1 : 2 в плоскодонных 96-луночных микропланшетах 18 часов при 37 °С и 4% CO₂. Затем в лунки добавляли 20 мкл рабочего раствора витального красителя МТТ (Honeywell Fluka, США) в концентрации 5 мг/мл. После 3–4-часовой инкубации в CO₂-инкубаторе планшеты центрифугировали при 200 г (5 минут), удаляли супернатант и в лунки добавляли по 150 мкл диметилсульфоксида (Serva, ФРГ). По оптической плотности при длине волны 540 нм, измерявшейся на мультискане MS (LabSystems, Израиль), рассчитывали процент лизиса опухолевых клеток (процент цитотоксичности):

$$\text{ЦИ (\%)} = [1 - (\text{ОПЭ} + \text{М} - \text{ОПЭ}) / \text{ОПМ}] \times 100,$$

где ОПЭ + М — оптическая плотность в опытных сериях,
ОПЭ — оптическая плотность в лунках с эффе́кторами,
ОПМ — оптическая плотность в лунках с мишенями.

На **клиническом этапе** определяли общее содержание лейкоцитов и субпопуляций лимфоцитов, Толл-подобных рецепторов (TLR). Цитокиновый профиль оценивали по содержанию про- и противовоспалительных цитокинов: IL-1b, IL-2, фактора некроза опухоли альфа (ФНО-α), интерферона гамма (ИНФ-γ), IL-12p70, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-13, IL-17a, IL-22.

При оценке содержания *субпопуляций лимфоцитов* (изучении иммунофенотипа лейкоцитов) экспрессию поверхностных маркеров мононуклеаров определяли при помощи моноклональных антител против соответствующих антигенов. Клетки отмывали холодным фосфатно-солевым буфером (ФСБ) с 1%-ной эмбриональной телячьей сывороткой (ЭТС) и окрашивали антителами, меченными ФИТЦ и фикоэритрином (PE), согласно инструкции производителя. Отмывали 2 раза холодным ФСБ с 1%-ной ЭТС. Клетки фиксировали ФСБ, содержащим 1% параформальдегида. Результаты учитывали на проточном цитометре FACSCalibur (BD Biosciences, США) с аргон-ионным лазерным (488 нм) и дискриминационным (585/42 нм, FL2) фильтрами мощностью 15 мВт каждый. На мононуклеарных лейкоцитах исследовали уровни экспрессии дифференцировочных антигенов CD3, CD4, CD8, CD20, NK1.1; активационных антигенов CD25, HLA-DR. Данные изучали после выделения логического гейта клеточной популяции в dot/plot-распределении клеток по их линейному переднему и боковому светорассеянию. При учете результатов анализировали минимум 10 000 событий в гейте.

Оценку *экспрессии TLR* на МЛПК осуществляли методом проточной цитометрии с применением моноклональных антител против соответствующих антигенов. Клетки отмывали холодным ФСБ с 1%-ной фетальной телячьей сывороткой (ФТС), окрашивали ФИТЦ- и PE-меченными антителами согласно инструкции производителя, а затем дважды отмывали холодным ФСБ с 1%-ной ФТС. Результаты учитывали на проточном цитометре Cytomics FC 500 (Beckman Coulter, Inc., США). На МЛПК исследовали, в частности, уровни экспрессии TLR2, TLR4, TLR9. Гейт популяции клеток устанавливали на основе комбинации прямого и бокового светорассеяния и размера клеток. При учете результатов подсчитывали 5000 клеток в гейте.

Содержание *цитокинов* оценивали в сыворотке/плазме крови больных при помощи тест-системы FlowCytomixHumanTh1/Th2 14 plex (Bender MedSystems, Австралия), используя шарики, сенсibilизированные моноклональными антителами к цитокинам (гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, ИНФ-γ, IL-1β, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-17, ФНО-α). Определение уровня цитокинов проводили согласно инструкции производителя с применением проточного цитометра Cytomics FC 500.

Уровень *белков теплового шока* (БТШ) устанавливали в сыворотке крови методом твердофазного иммуноферментного анализа (HSP79 high sensitivity ELISA kit) в диапазоне детектируемых концентраций от 1 до 13 пкг/мл согласно инструкции производителя (Enzo Life Sciences (ELS) AG, Швейцария).

Статистическую значимость определяли при помощи t-критерия Стьюдента. Различия показателей считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Первыми были проанализированы результаты экспериментального исследования. При изучении фагоцитарной активности МЛПК кроликов в отношении *S. aureus* сравнение показателей нейтрофилов и моноцитов выявило достоверно больший эффект стрессирующего воздействия в группе ОРП (в обоих случаях $p < 0,05$) (рис. 1).

Сравнение показателей цитотоксической активности МЛПК кроликов против линии клеток K562 при соотношении мишень/эффектор 1 : 10 до и после операции показало ее падение в послеоперационном периоде в группе ОРП. При ЛРП снижение цитотоксической активности было достоверно менее выраженным ($p < 0,05$) (рис. 2).

Пролиферативная активность оценивалась как спонтанная, так и индуцированная фитогемагглютинином. Можно отметить высокие показатели спонтанной активности и сниженные уровни индуцированной активности после оперативного вмешательства в обеих группах (в обоих случаях $p < 0,05$) (рис. 3).

Рис. 1. Динамика фагоцитарной активности мононуклеарных лейкоцитов периферической крови кроликов в отношении *S. aureus* при открытых (А) и лапароскопических (Б) резекциях печени, %.

Примечание. Различия между группами по изменению показателей нейтрофилов и моноцитов статистически значимы: $p < 0,05$

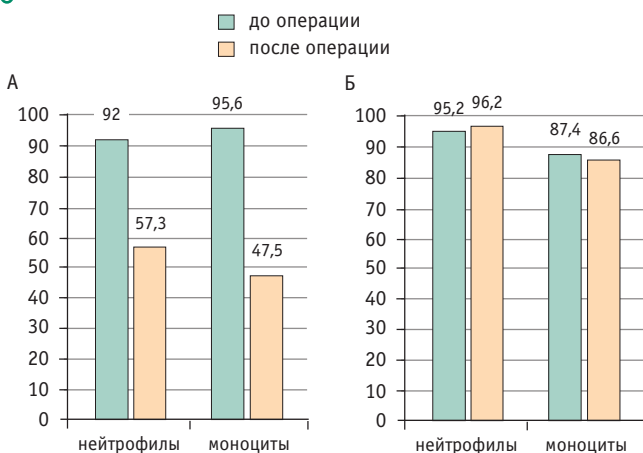
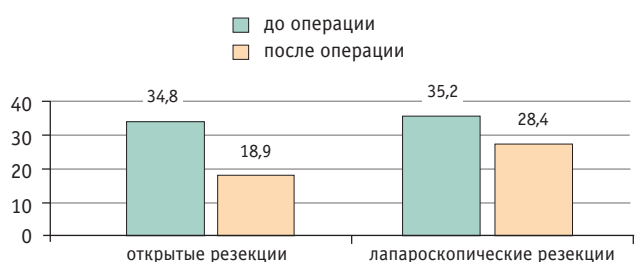


Рис. 2. Динамика цитотоксической активности мононуклеарных лейкоцитов периферической крови кроликов против линии клеток K562 при открытых и лапароскопических резекциях печени, %.

Примечание. Различия между группами по изменению показателя статистически значимы: $p < 0,05$



На клиническом этапе выявлен достоверно больший ($p < 0,05$) прирост показателей лейкоцитов в послеоперационном периоде в группе ОРП (с $4,6 \pm 1,6$ до $9,1 \pm 4,4 \times 10^9$) в сравнении с группой ЛРП (с $4,8 \pm 1,5$ до $7,8 \pm 4,7 \times 10^9$). Этот результат обусловлен большим приростом послеоперационных результатов при обширных резекциях, тогда как вмешательства «малого» объема демонстрировали лучшие значения в группе ЛРП ($> 30\%$).

При сравнении данных по популяциям лейкоцитов наиболее информативными проявили себя показатели CD4 и CD8. В контрольной группе изменения в послеоперационном периоде характеризовались большим проявлением операционного стресса, чем в группе ЛРП. Динамика изменений отражена в таблицах 1–3.

TLR в ответ на инфекцию обеспечивают передачу сигналов, необходимых для активации адаптерного белка MyD88

Рис. 3. Динамика спонтанной и индуцированной пролиферативной активности мононуклеарных лейкоцитов периферической крови кроликов при открытых (А) и лапароскопических (Б) резекциях печени, %.

Примечание. В обеих группах изменения показателей спонтанной и индуцированной активности статистически значимы: $p < 0,05$

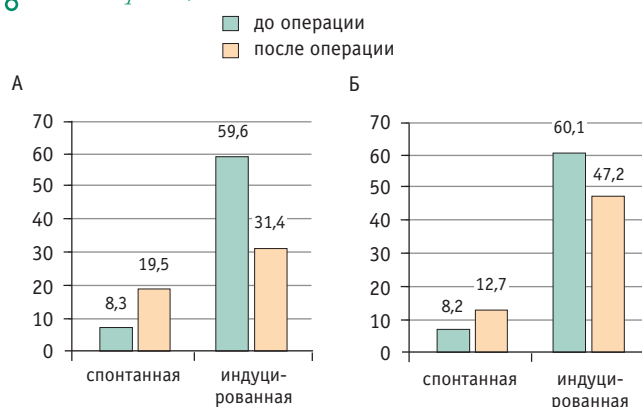


Таблица 1

Показатели лейкоцитов и субпопуляций при открытых и лапароскопических резекциях печени большого и малого объема через 6 часов после вмешательства, клеток/мл

| Показатели | Операции большого объема | | Операции малого объема | |
|------------|--------------------------|-------------------|------------------------|-------------------|
| | открытые | лапароскопические | открытые | лапароскопические |
| LYM | 1011 | 1710 | 803 | 1356 |
| CD3 | 1081 | 886 | 998 | 653 |
| CD4 | 666 | 744 | 705 | 598 |
| CD8 | 327 | 436 | 358 | 334 |
| NK | 186 | 366 | 206 | 211 |
| CD20 | 214 | 353 | 257 | 223 |
| HLA-DR | 81 | 39 | 87 | 43 |
| CD25 | 97 | 36 | 105 | 59 |
| CD4/CD8 | 1,88 | 1,68 | 1,96 | 1,79 |

и транскрипционных факторов (NF-κB), запускающих транскрипцию генов ключевых эффекторов врожденного иммунитета. Эти сигнальные пути осуществляют первичное распознавание патогена, важное для управления процессом развития неспецифической резистентности и адаптивного иммунитета. По результатам тестов, проведенных в ходе определения экспрессии TLR на клетках крови (гранулоцитах), через 6 часов после операции в контрольной группе отмечено повышение уровней TLR2, TLR3, TLR4 и TLR8, в то время как показатели TLR5 и TLR9 снизились. На 7-е сутки все показатели, кроме TLR2, были ниже дооперационных значений. В группе ЛРП через 6 часов после оперативного вмешательства также наблюдалось увеличение ряда показателей, выявлен высокий уровень TLR4, играющего немаловажную роль в реализации врожденного иммунитета и участвующего в активации

цитокинов. На 7-е сутки в основной группе уровни TLR8, TLR9 превысили данные контрольной группы, значения остальных рецепторов снизились ($p < 0,05$) (рис. 4).

Уровни БТШ в сыворотке крови при ОРП в динамике показали статистически значимый ($p < 0,05$) прирост ($58,8 \pm 1,4$ — $124,6 \pm 9,1$ — $217,5 \pm 8,3$ — $115,9 \pm 11,4$ нг/мл) в сравнении с группой ЛРП ($59,0 \pm 2,6$ — $93,9 \pm 7,0$ — $128,1 \pm 3,5$ — $83,9 \pm 5,9$ нг/мл), изменения в которой демонстрировали меньшую реактивность. При сравнении обширных и «малых» резекций выявлено преимущество последних в группе с лапароскопическим доступом. В случае обширных вмешательств приоритет также имела основная группа с ЛРП, но результаты были более сопоставимы с контролем.

Уровни практически всех цитокинов у больных как до операции, так и после нее были достоверно выше, чем у здоровых лиц ($p < 0,05$). ЛРП имела преимущества над традиционными (лапаротомия) операциями, однако дисперсия показателей не имела статистической значимости. Как видно из графиков, обширные резекции демонстрировали больший разброс данных в сравнении с «малыми» вмешательствами (рис. 5).

Согласно экспериментальным данным, фагоцитарная активность сохранилась практически неизменной в основной группе и снизилась в послеоперационном периоде в группе контроля. Цитотоксическая активность мононуклеарных

Таблица 2

Показатели лейкоцитов и субпопуляций при открытых и лапароскопических резекциях печени большого и малого объема через 24 часа после вмешательства, клеток/мл

| Показатели | Операции большого объема | | Операции малого объема | |
|------------|--------------------------|-------------------|------------------------|-------------------|
| | открытые | лапароскопические | открытые | лапароскопические |
| LYM | 1722 | 1708 | 1564 | 1466 |
| CD3 | 1157 | 1312 | 1329 | 906 |
| CD4 | 774 | 771 | 847 | 815 |
| CD8 | 384 | 489 | 378 | 478 |
| NK | 212 | 350 | 211 | 223 |
| CD20 | 158 | 359 | 170 | 246 |
| HLA-DR | 88 | 43 | 88 | 44 |
| CD25 | 77 | 69 | 85 | 62 |
| CD4/CD8 | 2,30 | 1,60 | 2,24 | 1,70 |

Таблица 3

Показатели лейкоцитов и субпопуляций при открытых и лапароскопических резекциях печени большого и малого объема на 7-е сутки после вмешательства, клеток/мл

| Показатели | Операции большого объема | | Операции малого объема | |
|------------|--------------------------|-------------------|------------------------|-------------------|
| | открытые | лапароскопические | открытые | лапароскопические |
| LYM | 2530 | 3798 | 2058 | 2187 |
| CD3 | 1936 | 2846 | 2008 | 1965 |
| CD4 | 1219 | 2075 | 1316 | 790 |
| CD8 | 566 | 648 | 581 | 469 |
| NK | 276 | 193 | 272 | 206 |
| CD20 | 149 | 441 | 161 | 209 |
| HLA-DR | 96 | 86 | 95 | 78 |
| CD25 | 134 | 231 | 140 | 98 |
| CD4/CD8 | 2,33 | 2,73 | 2,27 | 1,68 |

Рис. 4. Динамика уровней Толл-подобных рецепторов при открытых и лапароскопических резекциях печени до и после операции, клеток/мл

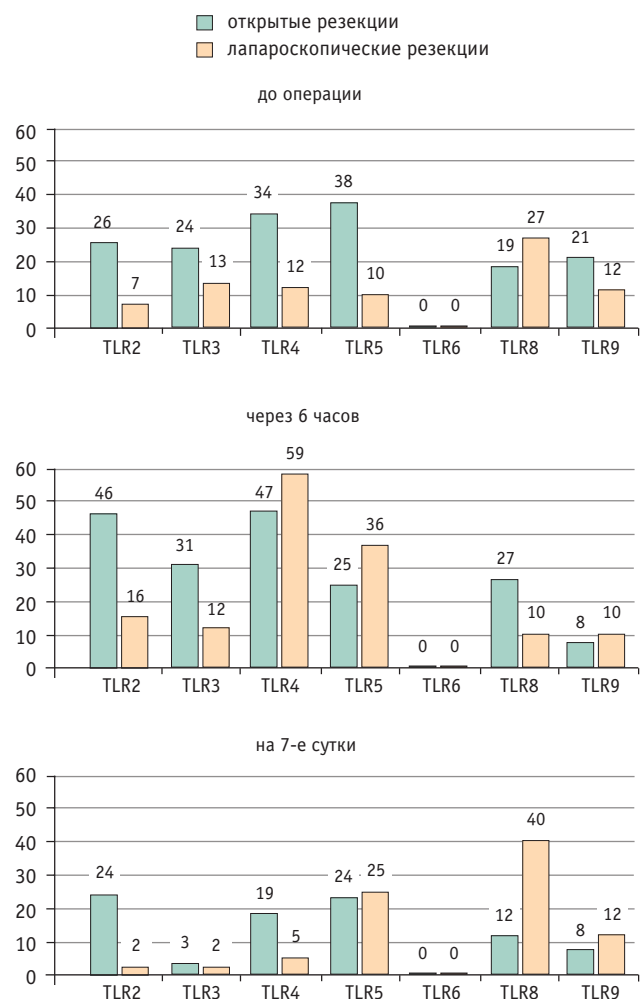
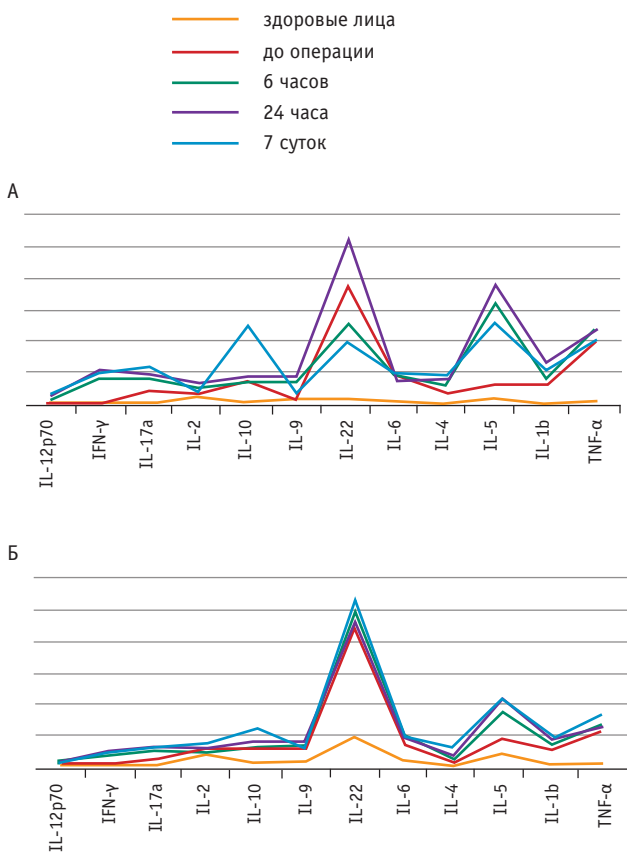


Рис. 5. Динамика уровней цитокинов при открытых и лапароскопических резекциях печени большого (А) и малого (Б) объема



лейкоцитов снизилась по отношению к НК-чувствительной линии K562 эритробластного лейкоза в контрольной группе более чем на 45%, тогда как в основной группе снижение составило около 20%. Эти данные косвенно демонстрируют уменьшение противовирусного и противоопухолевого потенциала НК-клеток. При сравнении пролиферативной активности мононуклеарных лейкоцитов отмечены усиление спонтанной пролиферации и уменьшение пролиферации, индуцированной фитогемагглютинином, в обеих группах, что обусловлено стрессирующим воздействием. Это означает, что лейкоциты не могут адекватно реагировать на дополнительную стимуляцию ввиду истощения их скрытых резервов.

На клиническом этапе исследования при сравнении резекций печени с лапаротомическим и лапароскопическим доступом показатели не отражали столь значимых различий. Можно отметить, что уровни лимфоцитов в ближайшем послеоперационном периоде имели небольшую разницу, спустя 6 часов после операции отмечалось снижение показателей гранулоцитов в обеих группах, однако через сутки после вмешательства показатели возвращались к дооперационным числам. Выявлено статистически значимое преобладание уровня моноцитов в контрольной группе исследования. Учитывая тот факт, что моноциты характеризуются выраженной фагоцитарной функцией и осуществляют противоопухолевый, противовирусный, противомикробный иммунитет, а также активируют цитотоксины, интерлейкин (IL-1), ФНО, ИНФ, можно предположить большой стрессирующий эффект лапаротомии в сравнении с лапароскопическим доступом.

В нашем исследовании определялись повышенные уровни экспрессии TLR в контрольной группе в сравнении

с группой ЛРП, что указывало на наличие инфекционных агентов и распознавание липополисахаридов грамотрицательных бактерий. TLR распознают патогенассоциированные молекулярные паттерны, которые экспрессируются на инфекционных агентах, и опосредуют продукцию цитокинов, необходимых для выработки эффективного иммунитета. Таким образом, можно предположить что развитие послеоперационных инфекционных осложнений, вызванных бактериальной инфекцией, превалировало в группе ОРП.

По результатам клинических исследований уровни практически всех цитокинов (за исключением IL-4 и IL-12) у больных как до операции, так и после нее были статистически значимо выше, чем у здоровых лиц. Уровень IL-4 в послеоперационном периоде постепенно повышался и на 7-е сутки наблюдения достигал максимального значения. Показатель IL-22 (или Т-клеточного индуцированного фактора) также поэтапно повышался, данный интерлейкин играет важную роль в аутоиммунных и онкозаболеваниях. Резюмируя вышеизложенное, следует отметить, что уровни всех цитокинов — Th1/Th2/Th9/Th17/Th22 — у больных были повышены уже до операции в результате физического стресса, обусловленного наличием опухолевого процесса, инфекции или сопутствующей патологии, что свидетельствует о наличии воспаления, связанного с активацией эффекторов иммунной системы. Оперативное вмешательство более интенсивно индуцировало повышение уровней данных цитокинов, обуславливая дисбаланс системы цитокинов хелперных клеток, который может приводить к функциональным и органическим нарушениям через индукцию «цитокинового шторма» и усугублять состояние пациентов.

Уровни БТШ в нашем исследовании были достоверно повышены в группе с ОРП в сравнении с ЛРП. Следует отметить, что дооперационные показатели пациентов также значительно отличались от нормативных (19,9–25,7 нг/мл в норме и 57,8–60,0 нг/мл у больных). Наблюдался статистически значимый прирост показателей в точках забора через 6 часов, 24 часа после операции, при этом средние значения в контрольной группе на всех этапах превышали соответствующие значения лапароскопической группы. На 7-е сутки показатели несколько снижались. Высокие уровни БТШ в клетке наблюдают после воздействия различных стрессирующих факторов: при инфекциях, воспалительных процессах, внешних воздействиях токсинов при ультрафиолетовом облучении, голодании, гипоксии. Внеклеточные и связанные с плазматической мембраной БТШ, и особенно Hsp70, участвуют в связывании и презентации антигенов. Так как повышение экспрессии БТШ наблюдают как ответ на стресс, рост их уровня позволяет рассматривать белки как один из факторов эндогенной защиты.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Лапароскопические резекции печени имеют преимущество перед открытыми резекциями печени, что подтверждается лабораторными и клиническими исследованиями врожденного иммунитета. В сравнении с лапароскопией лапаротомия при резекции печени у пациентов приводит к большему повышению показателей иммунного ответа, активации эффекторов врожденного и приобретенного иммунитета.

При выполнении «малых» резекций печени выраженность операционного стресса в группе лапароскопических операций была достоверно ниже, чем при открытых вмешательствах. В случаях обширных резекций печени отмечена меньшая зависимость выраженности операционного стресса

от выбора оперативного доступа. Повсеместное применение лапароскопии в хирургии печени требует проведения

дальнейших рандомизированных и ретроспективных анализов экспертных центров.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алиханов Р. Б., Израилов Р. Е., Цвиркун В. В., Хатьков И. Е. Лапароскопические анатомические резекции печени: анализ результатов и перспективы // *Анналы хирург. гепатологии*. 2014. № 3. С. 21–26.
2. Ахматова Н. К., Киселевский М. В. Врожденный иммунитет против воухолевого и противoinфекционный. М.: Практическая медицина, 2008. 254 с.
3. Белоцкий С. М. Эффект хирургии на фагоцитарную систему больных // *Хирургия*. 1985. № 2. С. 92–94.
4. Бударев В. Н. Влияние операционной травмы при холецистэктомии на течение раннего послеоперационного периода: Дис. ... канд. мед. наук. Рязань, 2010. 119 с.
5. Вишневецкий В. А., Кубышкин В. А., Чжао А. В., Икрамов Р. З. Операции на печени. Руководство для хирургов. М.: Медицина, 2008. 155 с.
6. Гальперин Э. И., Карагюлян С. Р., Мочалов А. М. Опыт анатомических и атипичных резекций печени // *Хирургия*. 1987. № 7. С. 52–62.
7. Джантуханова С. В. Лапароскопические резекции печени: Дис. ... канд. мед. наук. М., 2010. 138 с.
8. Кудрявцев П. В. Топографо-анатомическое обоснование возможности выполнения видеоэндоскопических резекций печени: Дис. ... канд. мед. наук. М., 2007. 136 с.
9. Патютко Ю. И. Хирургическое лечение злокачественных опухолей печени. М.: Практическая медицина, 2005. 312 с.
10. Патютко Ю. И., Пылев А. Л., Сагайдак И. В., Котельников А. Г. Расширенные резекции печени при злокачественных опухолях // *Хирургия*. 2009. № 2. С. 16–21.
11. Хаитов Р. М., Пинегин Б. В. Изменение иммунитета при хирургических вмешательствах // *Анналы хирург. гепатологии*. 1998. № 2. С. 100–110.
12. Capussotti L., Polastri R. Operative risks of major hepatic resections // *Hepatogastroenterology*. 1998. Vol. 45. N 19. P. 184–190.
13. Allard M. A., Cunha A. S., Gayet B., Adam R. et al.; Colorectal Liver Metastases-French Study Group. Early and long-term oncological outcomes after laparoscopic resection for colorectal liver metastases: a propensity score-based analysis // *Ann. Surg.* 2015. Vol. 262. N 5. P. 794–802.
14. Burpee S. E., Kurian M., Murakame Y., Benevides S. et al. The metabolic and immune response to laparoscopic versus open liver resection // *Surg. Endosc.* 2002. Vol.16. N 6. P. 899–904.
15. Cheung T. T., Poon R. T., Yuen W. K., Chok K. S. et al. Long-term survival analysis of pure laparoscopic versus open hepatectomy for hepatocel-

- ular carcinoma in patients with cirrhosis: a single-center experience // *Ann. Surg.* 2013. Vol. 257. N 3. P. 506–511.
16. Coelho F. F., Kruger J. A., Fonseca G. M., Araújo R. L. et al. Laparoscopic liver resection: Experience based guidelines // *World J. Gastrointest. Surg.* 2016. Vol. 8. N 1. P. 5–26.
17. Dokmak S., Raut V., Aussilhou B., Ftéliche F. S. et al. Laparoscopic left lateral resection is the gold standard for benign liver lesions: a case-control study // *HPB (Oxford)*. 2014. Vol.16. N 2. P. 183–187.
18. Doughtie C. A., Egger M. E., Cannon R. M., Martin R. C. et al. Laparoscopic hepatectomy is a safe and effective approach for resecting large colorectal liver metastases // *Am. Surg.* 2013. Vol. 79. N 6. P. 566–571.
19. Edwin B., Nordin A., Kazaryan A. M. Laparoscopic liver surgery: new frontiers // *Scand. J. Surg.* 2011. Vol. 100. N 1. P. 54–65.
20. Fretland A. A., Sokolov A., Postriganova N., Kazaryan A. M. et al. Inflammatory response after laparoscopic versus open resection of colorectal liver metastases: data from the Oslo-CoMet Trial // *Medicine (Baltimore)*. 2015. Vol. 94. N 42: e1786.
21. Karanika S., Karantanos T., Theodoropoulos G. E. Immune response after laparoscopic colectomy for cancer: a review // *Gastroenterol. Rep. (Oxf.)*. 2013. Vol. 1. N 2. P. 85–94.
22. Mala T., Edwin B., Gladhaug I., Fosse E. et al. A comparative study of the short-term outcome following open and laparoscopic liver resection of colorectal metastases // *Surg. Endosc.* 2002. Vol. 16. N 7. P. 1059–1063.
23. Tsimogiannis K. E., Tellis C. C., Tselepis A. D., Pappas-Gogos G. K. et al. Toll-like receptors in the inflammatory response during open and laparoscopic colectomy for colorectal cancer // *Surg. Endosc.* 2012. Vol. 26. N 2. P. 330–336.
24. Van Dam R. M., Wong-Lun-Hing E. M., van Breukelen G. J., Stoot J. H. et al.; ORANGE II Study Group. Open versus laparoscopic left lateral hepatic sectionectomy within an enhanced recovery ERAS® programme (ORANGE II-trial): study protocol for a randomised controlled trial // *Trials*. 2012. Vol. 13. P. 54.
25. Veenhof A. A., Vlug M. S., van der Pas M. H., Sietses C. et al. Surgical stress response and postoperative immune function after laparoscopy or open surgery with fasttrack or standard perioperative care: a randomized trial // *Ann. Surg.* 2012. Vol. 255. N 2. P. 216–221.
26. Wakabayashi G., Cherqui D., Geller D. A., Buell J. F. et al. Recommendations for laparoscopic liver resection: a report from the second international consensus conference held in Morioka // *Ann. Surg.* 2015. Vol. 261. N 4. P. 619–629. **D**

Библиографическая ссылка:

Панченков Д. Н., Алексанян Г. Б., Ахматова Н. К., Ефанов М. Г. и др. Оценка параметров операционного стресса после лапароскопических и открытых резекций печени // *Доктор.Ру*. 2017. № 2 (131). С. 69–75.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВОЗ — Всемирная организация здравоохранения
 ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота
 ЖКТ — желудочно-кишечный тракт
 ИМТ — индекс массы тела
 МРТ — магнитно-резонансная томография,
 магнитно-резонансная томограмма
 НПВС — нестероидные противовоспалительные средства
 ЧДД — частота дыхательных движений
 ЧСС — частота сердечных сокращений

ЩФ — щелочная фосфатаза
 ЭКГ — электрокардиография, электрокардиограмма
 Эхо-КГ — эхокардиография, эхокардиограмма
 AUC — area under ROC curve (площадь под ROC-кривой)
 HLA — human leukocyte antigen (человеческий лейкоцитарный антиген)
 Ig — иммуноглобулин
 IL — интерлейкин
 NK — натуральные киллеры