

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«КУРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

ПОЛЯНСКИЙ МАКСИМ БОРИСОВИЧ

ПРИМЕНЕНИЕ РОНКОЛЕЙКИНА ПРИ МУКОКЛАЗИИ ЖЕЛЧНОГО ПУЗЫРЯ  
В ЭКСПЕРИМЕНТЕ И У ПАЦИЕНТОВ СТАРШЕЙ ВОЗРАСТНОЙ ГРУППЫ  
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-КЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Специальность 14.01.17 -Хирургия

Диссертация  
на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Научные руководители:  
доктор медицинских наук,  
профессор Д.П. Назаренко  
кандидат медицинских наук,  
доцент Т.А. Ишунина

Курск 2018 г

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. Обзор литературы.....	13
1.1 Хирургическое лечение острого холецистита .....	13
1.2 Дренирующие желчный пузырь операции.....	15
1.3 Мукоклазия желчного пузыря.....	19
1.4 Особенности иммунитета у лиц пожилого и старческого возраста.....	24
1.5 Состояние иммунной системы при оперативных вмешательствах и остром холецистите.....	28
1.6 Применение ронколейкина в клинической практике.....	30
ГЛАВА 2. Материалы и методы исследования.....	35
2.1 Экспериментальное исследование.....	35
2.2 Клиническое исследование.....	42
ГЛАВА 3. Результаты экспериментальных исследований.....	50
3.1 Гематологические показатели экспериментальных животных.....	50
3.2 Влияние препарата Ронколейкин на иммунокомпетентные органы экспериментальных животных.....	58
3.3 Влияние препарата Ронколейкин на размеры гепатоцитов и их ядер.....	66
3.4 Гистологические изменения в стенке желчного пузыря экспериментальных животных.....	71
ГЛАВА 4. Результаты клинических исследований.....	80
4.1 Возрастные особенности реактивности организма при остром холецистите.....	80
4.2 Морфологические изменения в желчном пузыре при остром холецистите у пациентов четырёх возрастных групп.....	90
4.3 Результаты лечения больных острым холециститом с высокой степенью операционно – анестезиологического риска с использованием дренирующих операций.....	95
4.4 Результаты обследования и лечения больных I (контрольной)	

подгруппы которым выполнена «традиционная» холецистостомия с последующей термической мукоклазией желчного пузыря .....	104
4.5 Результаты лечения больных II (основной) подгруппы, которым выполнена «традиционная» холецистостомия с последующей термической мукоклазией желчного пузыря и вводился иммуномодулятор Ронколейкин.....	113
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	130
ВЫВОДЫ.....	143
РЕКОМЕНДАЦИИ.....	145
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ.....	146
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ.....	147
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	149

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы

В настоящее время заболеваемость желчекаменной болезнью (ЖКБ) имеет отчётливую тенденцию к росту. По числу заболевших ЖКБ занимает одно из лидирующих мест, уступая лишь острому аппендициту [2,13,21,32,63,131]. В связи с этим, ЖКБ относят к так называемым «болезням цивилизации». В настоящее время ЖКБ встречается более чем у 10% населения земного шара (данные всемирного конгресса гастроэнтерологов 2014 г.). При современном темпе роста населения земли к 2050 году ЖКБ будут страдать уже 20% населения земли [33,60,171]. Отмечается достоверный рост заболеваемости среди пациентов развитых и развивающихся стран, что в первую очередь связано с ростом продолжительности жизни в этих странах. По данным эпидемиологических исследований, заболеваемость ЖКБ в России составляет от 5 до 25% в различных регионах страны [31,32,46,92]. Так как холецистолитиаз является основным этиопатогенетическим компонентом развития острого холецистита, заболеваемость ЖКБ и острым холециститом имеют прямую взаимосвязь. Пик заболеваемости приходится на 60 лет [1,4,7,37,154,173,188].

Проблема лечения ЖКБ и её осложнений неоднократно обсуждалась на хирургических форумах. На XII съезде хирургов России «Актуальные вопросы хирургии» (г. Ростов-на-Дону 7-9 октября 2015 г.) были приняты национальные клинические рекомендации по хирургическому лечению острого холецистита. У лиц с оправданным операционно-анестезиологическим риском (легкое течение (Grade I) и среднетяжелое течение (Grade II)) для радикального лечения острого холецистита показано выполнение видеолапароскопической холецистэктомии (ВЛХЭ). При возрасте больного старше 65 лет, УЗ-признаках деструктивного холецистита и лейкоцитозе выше  $13 \times 10^9/\text{л}$  более предпочтительна холецистэктомия из мини- или срединного лапаротомного доступа [6,19,48,94].

Больные старших возрастных групп с наличием сопутствующей патологии представляют собой группу с повышенным операционно-анестезиологическим риском [48,126] и составляют от 26,4 до 66,0% от общего количества больных

острым холециститом [20,47,144]. Главной причиной летальных исходов при остром холецистите у больных старшей возрастной группы является сердечно-сосудистая недостаточность, которая развивается в 3,5 раза чаще, чем у молодых пациентов [27,30,35,48,164].

Минимизировать летальность у больных с высоким операционно-анестезиологическим риском (Grade III по национальным клиническим рекомендациям) можно, применив дренирующие желчный пузырь операции [2,111,134]. К дренирующим операциям относятся: пункция желчного пузыря, чрескожная чреспеченочная микрохолецистостомия (ЧЧМХС) и «традиционная» или открытая холецистостомия. К преимуществам ЧЧМХС относятся: малый травматизм, простота манипуляции, использование местной анестезии, возможность выполнения даже у реанимационных больных, достаточно низкая стоимость дренажей. Процедура выполняется без предварительного создания напряженного пневмоперитонеума, который является необходимым условием при лапароскопической холецистостомии [38,132]. К основным недостаткам данной методики следует отнести нерадикальный характер операции, так как конкременты, вызывающие развитие острого процесса в желчном пузыре полностью или частично остаются в его полости. К другим недостаткам ЧЧМХС относятся опасность миграции катетера, возможность желчеистечения после удаления микрохолецистостомы, вероятность повреждения структур гепатодуоденальной связки. Выполнение ЧЧМХС не имеет смысла при заполнении желчного пузыря на более 2/3 своего объёма конкрементами (конкрементом) [14,40,66,74,156].

К преимуществам «традиционной» холецистостомии относятся возможность удаления из полости желчного пузыря конкрементов, вызывающих патологический процесс и отсутствие необходимости в дополнительном оборудовании (УЗ-сканер, лапароскопическая стойка) [25,61,105]. К недостаткам «открытой» холецистостомии относятся: гнойно-воспалительные процессы в области послеоперационной раны, «несостоятельность» холецистостомы, косметический дефект передней брюшной стенки [20,44]. Дополняя

«традиционную» холецистостомию мукоклазией, удается достичь эффекта равному холецистэктомии. [11,17,24,56,62,72].

Предложены различные методы мукоклазии желчного пузыря: хирургические (кюретаж, мукэктомия); химические (субсерозное введение раствора первомура, нашатырного спирта, этилового спирта и т. д.); физические (электродеструкция, криодеструкция, термодеструкция слизистой оболочки желчного пузыря) [17,24,45,74,130]. Многообразие предложенных методов указывает на нерешенность данной проблемы, так как при неполном удалении слизистой оболочки возможно образование кистоподобных полостей, реканализация устья пузырного протока с последующим рецидивом острого холецистита [44,62,72].

В связи с этим, актуальной темой при хирургическом лечении острого холецистита является использование стимуляторов роста соединительной ткани после мукоклазии с целью ускорения облитерации полости желчного пузыря.

Регенерация тканей во многом зависит от реактивности организма. А.П. Парахонский, А. А. Ярилин, М. А. Пальцев и С.А. Dinarello указывают на то, что у лиц пожилого и старческого возраста происходит закономерное снижение иммунной реактивности [55,98,117,143,151,163]. Ситуация усугубляется наличием острого холецистита, применением антибиотиков, а также операционной травмой, которые приводят к прогрессированию иммунодефицитного состояния. В раннем послеоперационном периоде отмечается снижение содержания в периферической крови Т-лимфоцитов, дисбаланс между популяциями CD3+клеток, сопровождающийся снижением их активности, увеличение частоты реакций гиперчувствительности замедленного типа [8,87,91,165,178,199]. В связи с этим, возможность использования иммуностимуляторов у пациентов старших возрастных групп при остром холецистите представляет немалый интерес и во многом предопределила цель и задачи настоящего исследования.

### **Степень разработанности темы**

Экспериментальное исследование с целью применения препарата Ронколейкин после термической мукоклазии желчного пузыря для стимуляции роста соединительной ткани и ускорения процесса облитерации его полости не проводились. Изучение возрастных особенностей течения острого холецистита и морфологических изменений в стенке желчного пузыря при остром холецистите в возрастном контексте не выполнялось. Препарат Ронколейкин для иммунокоррекции и одновременной стимуляции роста соединительной ткани в стенке желчного пузыря после термической мукоклазии не применялся, в связи с этим тема исследования является актуальной и определяет цель и задачи диссертационного исследования.

### **Цель исследования:**

В эксперименте изучить и оценить влияние препарата Ронколейкин на иммунный статус и рост соединительной ткани после термической мукоклазии желчного пузыря и на этой основе предложить способ стимуляции роста соединительной ткани после термической мукоклазии желчного пузыря. Результаты экспериментальных исследований сопоставить с клиническими наблюдениями и проверить прикладное их значение при облитерации желчного пузыря у холецистостомированных больных.

### **Задачи исследования:**

1. Изучить в эксперименте на животных влияние препарата ронколейкин на иммунный статус и течение воспалительных и репаративных процессов в стенке желчного пузыря после термической мукоклазии.

2. Провести комплексный анализ гематологических и биохимических показателей крови у больных острым холециститом четырёх возрастных групп согласно классификации ВОЗ (молодые, средний возраст, пожилые, старческий

возраст), изучение морфологических изменений в стенке желчного пузыря у пациентов с острым холециститом вышеназванных четырёх возрастных групп.

3. Разработать балльную шкалу оценки тяжести состояния больных острым холециститом старших возрастных групп и на ее основе обосновать показания к различным методам дренирующей желчный пузырь операций.

4. Изучить особенности иммунного статуса больных старших возрастных групп с острым холециститом до «традиционной» холецистостомии с последующей термической мукоклазией и после неё.

5. Анализ эффективности применения Ронколейкина у пациентов пожилого и старческого возраста после термической мукоклазии желчного пузыря в клинике.

#### **Научная новизна:**

1. Впервые проведено комплексное изучение влияния Ронколейкина на гематологические показатели, состояние органов иммунной системы и развитие соединительной ткани в экспериментальной модели термической мукоклазии желчного пузыря.

2. Впервые проведен комплексный анализ данных лабораторных и инструментальных методов исследования пациентов с острым холециститом различных возрастных групп, впервые проведено морфологическое исследование стенки желчного пузыря при остром холецистите у пациентов различных возрастных групп согласно периодизации ВОЗ.

3. Разработана балльная шкала оценки тяжести состояния больных острым холециститом и высоким операционно-анестезиологическим риском старшей возрастной группы для выбора метода дренирующей желчный пузырь операции.

4. Обоснована целесообразность и дана оценка эффективности коррекции иммунного статуса больных острым холециститом пожилого и старческого возраста.

5. Впервые изучено влияние Ронколейкина на иммунный статус и рост соединительной ткани, а также скорость облитерации желчного пузыря после

термической мукоклазии у холецистостомированных больных старшей возрастной группы с высоким операционно-анестезиологическим риском.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

На основании проведенного экспериментального исследования был предложен ускоренный способ облитерации желчного пузыря после предварительной термической мукоклазии, применение которого позволяет улучшить результаты лечения холецистостомированных больных с высокой степенью операционно-анестезиологического риска. Достоверно установлено стимулирующее влияние препарата Ронколейкин на рост и созревание соединительной ткани.

Течение острого холецистита неодинаково в различных возрастных группах, пациенты старших возрастных групп часто требуют коррекции вторичной иммунной недостаточности. Морфологические изменения в стенке желчного пузыря при остром холецистите у разных возрастных групп выражены неодинаково, что будет влиять на исход заболевания.

Доказано, что включение Ронколейкина в протокол лечения холецистостомированных больных способствует коррекции иммунного статуса, а также более быстрой облитерации полости желчного пузыря после термической мукоклазии.

Предложенная балльная шкала оценки тяжести состояния больных острым холециститом старшей возрастной группы для выбора метода дренирующей желчный пузырь операции проста, специфична, включает легко определяемые параметры, удобна при использовании в ургентной хирургии.

Применение «традиционной» холецистостомии по обоснованным показаниям у больных острым холециститом с высоким операционно-анестезиологическим риском с последующей термической мукоклазией по эффекту сопоставимо с холецистэктомией.

### **Методология и методы исследования**

Методы, использованные в ходе данного исследования, являются общепринятыми и обладают высокой степенью достоверности результатов. Первый: окраска гематоксилином + эозином (Г+Э) – для проведения морфологического, в том числе, цитометрического исследования при световой микроскопии; второй: окраска по Ван–Гизону – для определения коллагеновых волокон и изучения структур соединительной ткани. Выполнялось исследование крови экспериментальных животных на автоматическом гематологическом анализаторе для определения влияния препарата Ронколейкин на показатели «красной» и «белой» крови.

Проводилось исследование крови пациентов старших возрастных групп для изучения иммунного статуса и его динамики на фоне оперативного вмешательства и применения препарата Ронколейкин. Для статистического анализа достоверности полученных результатов проводился расчет средней величины количественного показателя ( $M$ ), стандартного отклонения ( $m$ ), критерия достоверности Стьюдента ( $t$ ), коэффициента корреляции Пирсона ( $r$ ).

### **Положения, выносимые на защиту:**

1. В условиях экспериментальной модели термической мукоклазии желчного пузыря применение препарата Ронколейкин позволяет добиться ускорения облитерации его полости за счёт прямой и опосредованной стимуляции процессов репарации и регенерации, а также корректировать нарушения показателей иммунного статуса.
2. Острый холецистит неодинаково протекает у пациентов различных возрастных групп, морфологические изменения в стенке желчного пузыря при остром холецистите характеризуются возрастными особенностями.
3. Иммунный статус пожилых пациентов с острым холециститом должен корректироваться, так как у данной категории больных выявляется вторичная иммунологическая недостаточность вследствие возрастных особенностей иммунной системы и наличия воспалительного процесса в брюшной полости.

Препарат Ронколейкин стимулирует Т-клеточное звено иммунитета и развитие соединительной ткани в желчном пузыре после термической мукоклазии в экспериментальной модели и у пациентов в клинике.

4. «Традиционная» холецистостомия с последующей мукоклазией желчного пузыря и облитерацией его полости должна быть операцией выбора у больных с оправданным операционно-анестезиологическим риском, так как позволяет добиться эффекта, сопоставимого с холецистэктомией и, тем самым, улучшить качество жизни больных.

5. Назначение больным препарата Ронколейкин после термической мукоклазии желчного пузыря позволяет ускорить процесс облитерации полости желчного пузыря.

6. Для клинической практики предложена шкала оценки тяжести физического состояния больных острым холециститом.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

В целях получения корректных данных применялись общепринятые научные методики. Цель исследования достигнута, поставленные задачи решены и соответствуют выводам и практическим рекомендациям, представленными по завершению научного исследования. Выполнен детальный анализ изучаемой проблемы, научных исследований авторов, занимающихся решением данной проблемы. Большинство статистических вычислений осуществлялось с помощью компьютерных программ Microsoft Excel-2013 и Statistica 6.0. Оригинальность работы составила 90%.

Основные результаты диссертационного исследования представлены на:

1. 79-й Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Молодежная наука и современность», посвященной 79-летию Курского государственного медицинского университета, Курск, 2014;
2. Международной научно-практической конференции «Университетская наука: взгляд в будущее», посвященной 81-летию Курского государственного

медицинского университета и 50-летию фармацевтического факультета, Курск, 2016;

3. Седьмой международной дистанционной научной конференции: «Инновации в медицине», посвященной 82-летию Курского государственного медицинского университета, Курск, 2016;

4. 43-й научной сессии ЦНИИГ: «От традиций к инновациям», Москва, 2017;

5. Национальном хирургическом конгрессе совместно с XX юбилейным съездом РОЭХ, Москва, 2017;

6. Всероссийской научной конференции студентов и молодых учёных с международным участием «Молодежная наука и современность», посвящённой 82-летию КГМУ, Курск, 2017;

7. XIV конференции иммунологов Урала, Челябинск, 2017;

8. Международной научно-практической конференции «Университетская наука: взгляд в будущее», посвященной 83-летию Курского государственного медицинского университета, Курск, 2016.

По материалам диссертационного исследования опубликовано 11 работ. Четыре статьи опубликованы в журналах, входящих в перечень изданий, определенных ВАК РФ в качестве рекомендованных для публикации кандидатских и докторских диссертаций. Получено положительное решение по заявке № 2017107478/14(012956) на патент РФ.

### **Структура и объём диссертации**

Диссертация изложена из 170 страниц машинописного текста, включает введение, четыре главы собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации, список условных сокращений и список литературы. Иллюстративный материал представлен 45 рисунками и 37 таблицами. Библиографический указатель включает в себя 199 литературных источников, 143 отечественных и 56 иностранных.

## ГЛАВА 1. Обзор литературы

### 1.1. Хирургическое лечение острого холецистита

Заболеваемость острым холециститом в России за последние годы увеличилась более чем в 5 раз. Каждый год выполняется до 500 000 холецистэктомий, летальность при этом составляет 1,5% [16,29,70,179]. Целью хирургического лечения острого холецистита является удаление желчного пузыря или нивелирование внутрипузырной гипертензии, что приводит у регрессу системной и местной воспалительной реакции. [3,46,51,76,181,185].

В соответствии с Национальными клиническими рекомендациями, принятыми на XII съезде хирургов России (Ростов-на-Дону, 2015 г.) при остром холецистите хирургическое вмешательство должно выполняться в ближайшие от начала заболевания сроки - до 72 часов. Тот или иной вид оперативного вмешательства проводится после проведения необходимого лабораторно-инструментального и клинического обследования, а также зависит от состояния пациента [15,46,78,123,193]. Не рекомендуется проводить операции в ночное время, при отсутствии возможности круглосуточного наблюдения за пациентом, даже при наличии опытной бригады хирургов. [2,100,109,125,133,157].

Холецистэктомия в ближайшие от начала заболевания время выполняется из лапаротомного, минилапаротомного доступа и с использованием видеоэндоскопической техники. В большинстве случаев наиболее предпочтительна ВЛХЭ [1,103,106,107,165]. Достоинствами видеолапароскопической холецистэктомии в первую очередь являются: низкая травматичность, вследствие чего невыраженный болевой синдром, ранняя активизация больных, уменьшение пребывания больных в стационаре, значительное уменьшение числа ранних и поздних осложнений в частности послеоперационных грыж [55,57,60,106,136,154,195]. Однако отмечается, что у больных пожилого и старческого возраста частота летальных исходов, интраоперационных и послеоперационных осложнений достоверно выше. Главными же недостатками ВЛХЭ являются: высокий операционный риск у

пациентов с сердечно-сосудистой и легочной патологией, так как в брюшной полости создается напряженный пневмоперитонеум [22,77,114,149]. При этом методе операции остаётся довольно высокий риск ятрогенного повреждения различных структур, в первую очередь, общего желчного протока - частота повреждения внепеченочных желчных протоков в связи с повсеместным внедрением лапароскопической техники, по данным разных авторов возросла от 2 до 5 раз [28,103,128,138,154,170].

В тех ситуациях, когда оперативное вмешательство проводится позже 72 часов от начала заболевания, у больных старше 65 лет, УЗ-признаках деструктивного холецистита, лейкоцитозе более  $13 \times 10^9/\text{л}$ , наличии плотного воспалительного инфильтрата, более предпочтительно выполнить лапаротомную холецистэктомию из мини- или срединного доступа, так как при использовании лапароскопической техники не всегда удается выполнить холецистэктомию [19,27,132,182]. Использование интубационного наркоза, применение напряжённого карбоксипневмоперитонеума может вызвать декомпенсацию сердечно-сосудистой и легочной патологии у данных пациентов [16,30,47,89,129,135].

В зависимости от состояния пациента, давности заболевания, степени воспалительных изменений в стенке желчного пузыря и подхода к хирургическому лечению, выделяется три варианта течения острого холецистита: легкое течение (Grade I), среднетяжелое течение (Grade II) и тяжелое течение (Grade III). При легком и среднетяжелом течении острого холецистита выполняется ВЛХЭ или лапаротомная холецистэктомия. При тяжелом течении заболевания происходит декомпенсация защитных сил организма, сопровождающаяся органной или полиорганной недостаточностью, развитием респираторного дистресс-синдрома, возрастанием содержания мочевины и креатинина в плазме, нарушением в системе гемостаза, радикальная операция становится непереносимой [22,35,48,150,190]. Больные с тяжелым течением острого холецистита относятся к группе повышенного риска, выполнение холецистэктомии у данной категории больных может привести к неблагоприятному исходу [5,17,20,44,96,184]. В связи с этим, у

больных с тяжелым течением острого холецистита целью оперативного лечения является ликвидация внутрипузырной гипертензии. Для этого применяются дренирующие желчный пузырь операции [11,24,34,37,42,180,183].

Ранний дренаж полости желчного пузыря – холецистостомия (чрескожная чреспеченочная или минилапаротомная), позволяющая избежать выполнения операций в сложных технических условиях [35,146,174]. Она абсолютно показана при тяжелом течении острого холецистита в сложных технических условиях, а также при тяжелом течении острого у пациентов с грубой соматической патологией [3,27,37,145]. По данным различных авторов, пациенты, относящиеся к группе повышенного операционно-анестезиологического риска, составляют от 26,4 до 66,0% от общего количества больных острым холециститом [1,49,63,66,137,177].

Ввиду сниженного иммунитета, наличия сопутствующей, в первую очередь, сердечно-сосудистой патологии, воспалительный процесс, начавшись со слизистой оболочки, быстро охватывает все слои стенки желчного пузыря [50,79,121]. Количество осложненных и деструктивных форм острого холецистита у пожилых и старческих больных остается на высоком уровне – от 38,5 до 90%. [13,20,42,47,55,173]. Главной причиной летальных исходов при остром холецистите у больных старшей возрастной группы является сердечно-сосудистая недостаточность, которая развивается в 3,5 раза чаще, чем у молодых пациентов [4,16,21,78,93,116,189]. Послеоперационная летальность, по данным ряда авторов, у больных до 60 лет составляет 2,3-3,3%, а у пациентов старше 60 лет этот же показатель увеличивается до 24,6%, [2,19,22,95,101,197].

## **1.2. Дренирующие желчный пузырь операции**

В тех случаях, когда выполнение холецистэктомии невозможно или противопоказано, используются операции, дренирующие желчный пузырь [95,137,180]. К подобным вмешательствам относятся: пункция желчного пузыря, чрескожная чреспеченочная микрохолецистостомия (ЧЧМХС), лапароскопическая холецистостомия, «традиционная» холецистостомия [5,78,105,127,147,185].

Рассмотрим каждый вид дренирующей операции отдельно. Пункция

желчного пузыря известна более 200 лет. В настоящее время желчный пузырь пунктируют с целью быстрой декомпрессии и устранения пузырной гипертензии в экстренном порядке. На сегодняшний день пункцию проводят под сонографическим контролем из подреберного доступа, чреспеченочно - для исключения возможного желчеистечения через пункционное отверстие, так как желчь при остром холецистите в большинстве случаев инфицирована, но при данном способе минимизируются риски развития перитонита и абсцессов брюшной полости [5,45,111]. Манипуляция включает в себя эвакуирование желчи, промывание полости желчного пузыря растворами антисептиков [75,78,116] При необходимости манипуляцию можно повторить или завершить постановкой ЧЧМХС. Если же обычного пункционного вмешательства недостаточно, что определяется клиникой и УЗ-мониторингом, применяют ЧЧМХС. Она выполняется с помощью УЗИ по двум методикам: по методике Hawkins (катетер-гармошка) и по методике Seldinger (катетер pigtail). И пункция, и ЧЧМХС могут использоваться в качестве подготовки больного к радикальному оперативному лечению [4,66,88,109,140]. Так как операции по поводу острого холецистита, выполняемые в первые часы или ближайшее время после начала приступа острого холецистита, сопровождаются высоким операционно-анестезиологическим риском, летальность при наличии грубой соматической патологии в комбинации с возрастом может достигать до 45 - 50% [13,19,30,35,68,132,196]. При использовании мининвазивных технологий данный показатель снизился в 2 - 2,5 раза [2,16,27,46,170,181]

ЧЧМХС имеет ряд бесспорных преимуществ по сравнению с другими декомпрессионными вмешательствами: малый травматизм, простота самой манипуляции, использование местной анестезии, возможность постановки ЧЧМХС даже у реанимационных больных, достаточно низкая стоимость дренажей, процедура выполняется без предварительного создания напряженного пневмоперитонеума, который является необходимым условием при лапароскопической холецистостомии. Данный метод декомпрессии может быть окончательным способом желчеотведения при тяжелой сопутствующей патологии

в комбинации с преклонным возрастом пациента [73,110]. Повсеместное введение технологии ЧЧМХС в рутинную практику в первую очередь ургентной хирургии снизило летальность при остром холецистите с 1,6 до 0,4% [7,16,35,63,167,179]. К основному недостатку данной методики относится в первую очередь нерадикальный характер вмешательства, а именно: при ЧЧМХС конкременты, вызывающие развитие острого процесса в желчном пузыре, полностью или частично остаются в его полости, хотя и существуют методики физического (экстракорпоральной волновой и электрогидравлической литотрипсии) и химического (уродезоксихолевой и хенодезоксихолевой кислотами) воздействия на конкременты. Литотрипсия далеко не всегда позволяет полностью решить проблему острого холецистита у больных, которым она выполняется [24,78,178]. Данная методика хорошо себя зарекомендовала в качестве первого этапа лечения острого холецистита, особенно у больных с высоким операционно-анестезиологическим риском. К недостаткам ЧЧМХС относятся также опасность миграции катетера, а также возможность желчеистечения после удаления микрохолецистостомы, вероятность повреждения структур гепато-дуоденальной связки при выполнении манипуляции. Выполнение ЧЧМХС теряет свой смысл при заполнении желчного пузыря более 2/3 своего объема конкрементами (конкрементом) [40,84,105,122,135].

Еще одним декомпрессионным вмешательством при остром холецистите является лапароскопическая холецистостомия. Данная методика также применяется с целью декомпрессии желчного пузыря и противоестественного желчеотведения при остром холецистите. К преимуществам данного способа относятся: наибольшая точность постановки дренажа, так как при данной методике происходит прямая визуализация желчного пузыря и близлежащих структур, методика хорошо себя зарекомендовала также при так называемом «висячем желчном пузыре», когда желчный пузырь, ввиду своей анатомии, чрезмерно подвижен, или же при противоположном пороке развития- внутрипеченочном расположении, данные преимущества также связаны с прямой визуализацией желчного пузыря и наименьшей вероятностью повреждения соседних

анатомических структур [115,186]. И «висящий пузырь», и внутривенное расположение вызывает существенные трудности при ЧЧМСХ под УЗИ-контролем. Недостатком данного метода холецистостомии является создание напряженного пневмоперитонеума, что чревато внезапным развитием и нарастанием сердечно-сосудистой и дыхательной недостаточности, это особенно актуально у больных с уже имеющейся патологией данных систем. Применяемый ЭТН при данной манипуляции может вызвать декомпенсацию нарушенных функций у пожилых больных [124,191]. При лапароскопической холецистостомии конкременты все равно остаются в полости желчного пузыря, а сама методика противопоказана при гангренозном холецистите ввиду деструкции стенки и опасности развития перитонита, а также при уже развившемся перитоните [20,34,44,71,176].

С целью дренирования желчного пузыря при остром холецистите может применяться «традиционная» или «открытая» холецистостомия, которая известна человечеству уже более 120 лет. Такой способ борьбы с пузырной гипертензией и приступом острого холецистита является наиболее радикальным из всех существующих, так как только при «открытой» холецистостомии возможно удаление из полости желчного пузыря конкрементов, вызывающих в нем патологический процесс, что является главным преимуществом данной методики. Другим немаловажным преимуществом является возможность применения местной анестезии или внутривенного наркоза. Для выполнения традиционной холецистостомии не нужно создавать напряженный пневмоперитонеум. Благодаря вышеперечисленным достоинствам, главными из которых являются удаление патологического субстрата, малый травматизм и высокая эффективность, «открытая» холецистостомия занимает прочную позицию в лечении ЖКБ и острого холецистита, особенно у больных с высоким операционно-анестезиологическим риском [62,105,120,148]. К недостаткам «открытой» холецистостомии относятся: гнойно-воспалительные процессы в области послеоперационной раны, «несостоятельность» холецистостомы, косметический дефект передней брюшной стенки [121,135,140].

Все дренирующие желчный пузырь операции в основном используются в качестве первого этапа лечения ЖКБ для быстрого купирования приступа острого холецистита, препятствуя развитию деструктивных процессов в его стенке, после чего должна выполняться радикальная операция в той или иной интерпретации. Но у больных с высоким операционно-анестезиологическим риском при тяжелом течении заболевания холецистостомия может являться не только первым, но и заключительным этапом лечения острого калькулезного холецистита, так как даже плановая холецистэктомия для пожилых пациентов с тяжелой сопутствующей патологией является довольно рискованным оперативным вмешательством [90,109,116,183].

Решение данной ситуации возможно следующими путями: постоянно функционирующая холецистостома в том или ином ее варианте, которая существенно снижает качество жизни данных больных, не говоря уже о больших, трудно компенсируемых потерях желчи и электролитов по дренажам, или же применение щадящих, но в тоже время радикальных операций для данной категории больных - мукоклазии желчного пузыря [24,34,45,61,72,74,84,].

Применение мукоклазии желчного пузыря после «традиционной» холецистостомии позволяет, на наш взгляд, преобразовать дренирующую желчный пузырь операцию в радикальную по эффекту, сопоставимому с холецистэктомией.

### **1.3. Мукоклазия желчного пузыря**

Термин мукоклазия складывается из двух корней: латинского *mucis-*слизь(слизистая) и греческого *klasis-*ломка (ломать), буквальный перевод вполне отражает суть оперативного вмешательства. В ряде случаев выполнение радикального оперативного вмешательства при ЖКБ невозможно ввиду возраста и тяжелой сопутствующей патологии пациента или же в технически сложных случаях, когда близлежащие структуры и сам желчный пузырь находятся в инфильтрате или выраженном спаечном процессе, когда возможно дифференцировать только какую-то часть желчного пузыря. Для решения подобных ситуаций прибегают к такому методу лечения, как мукоклазия желчного

пузыря. После демукотизации слизистой оболочки желчного пузыря его полость полностью или частично облитерируется, благодаря прогрессирующему росту подслизистой основы. В случае, когда слизистая оболочка неполностью некротизируется, образуются полости с мукозным секретом, это менее благоприятный исход мукоклазии. В тех случаях, когда произведено полное удаление слизистой оболочки желчного пузыря, орган уменьшается в размерах, полость облитерируется за счет соединительнотканых структур, и, в конечном итоге, на месте воспаленного желчного пузыря у больного, которому противопоказана холецистэктомия, образуется рубец. При эффективной мукоклазии достигается эффект, схожий с холецистэктомией [25,34,61,62,84].

Данный способ известен с конца 19-го века, когда французский хирург E. Doyen предложил и выполнил мукоэктомию желчного пузыря у пациента с острым холециститом в стадии инфильтрации. Разделить инфильтрат без интраоперационного повреждения двенадцатиперстной и толстой кишок не представлялось возможным, тогда E. Doyen произвел субсерозную холецистэктомию. В дальнейшем W. Mayo и C. Mayo в начале 20-го века разрабатывали способы оперативных вмешательств при остром холецистите в случае невозможности отделения стенки желчного пузыря от печени. Участки, удалить которые не представлялось возможным, исследователи коагулировали или кюретировали [62,84,192].

Следующим этапом в развитии техники мукоклазии являются исследования B. Pribram, автора термина «мукоклазия», который впервые выполнил широкое вскрытие желчного пузыря, удалил конкременты и желчь, произвел коагуляцию слизистой оболочки желчного пузыря и его сшивание. Результат был сопоставим с радикальной операцией [3,17,24].

Родоначальником химической мукоклазии желчного пузыря по праву считается W. Catch, который выполнял демукотизацию желчного пузыря «агрессивными» растворами, такими как фенол. В дальнейшем для этих целей применялись такие растворы как 95% раствор этанола, раствор первомура, 6% раствор уксусной кислоты, водные растворы нитрата серебра, горячий метризол.

Но химическая мукоклазия, как показали многие исследования, является менее перспективным направлением, нежели физическая, ввиду высокой опасности перфорации воспаленной стенки желчного пузыря и истечения склерозанта в свободную брюшную полость. Помимо местного воздействия в виде выраженного спаечного процесса, возможно и системное воздействие на организм, что в совокупности с возрастом и сопутствующей патологией может привести к трагическим последствиям [11,17,71,122].

Перспективным направлением в лечении ЖКБ и острого холецистита у пациентов с высоким операционно-анестезиологическим риском считаются способы физической демукотизации желчного пузыря. Разрушение слизистой желчного пузыря возможно с помощью YAG-лазера, из преимуществ которого на первое место выходят дозированное воздействие, стерилизующий эффект, отсутствие соприкосновения лазера и слизистой оболочки, не происходит «прилипания», и отсутствует травматизация. Углекислотные и ультрафиолетовые лазеры сходны по эффектам с YAG-лазером. Они отличаются лишь степенью и временем воздействия на слизистую оболочку. Известны работы с комбинированными способами мукоклазии, физической и химической, а именно - использование раствора первомура после электрокоагуляции полости желчного пузыря и пузырного протока [34,62,84,122].

Еще одним вариантом мукоклазии является использование катетера с нагревательным элементом после «отключения» желчного пузыря от протоковой системы путем наложения клипсы на пузырный проток [72,130]. Несмотря на то, что результаты, достигнутые в ходе данного оперативного вмешательства, были отличными, его выполнение становилось возможным только после лапароскопии. К тому же возникал риск разрыва баллона и попадания термоагента в общий желчный проток. Поэтому использование этого метода ограничено, а в ряде случаев и вовсе противопоказано.

Другим способом демукотизации желчного пузыря с его последующей облитерацией является каутеризация слизистой оболочки, предложенная в 2001 году С.И. Емельяновым. В этом случае выполняется электрокоагуляция

внутренней поверхности желчного пузыря под контролем гистероскопа [44]. Данный способ хорошо зарекомендовал себя в клинике. Однако применение электрического тока может вызвать декомпенсацию сердечно-сосудистой патологии [35,93].

В 2003 году А.В. Карташов предложил свой способ деэпителизации желчного пузыря, который заключается в следующем: пациенту с высоким операционным риском накладывают холецистостому, saniруют желчный пузырь от конкрементов и желчного детрита, выполняют электрокоагуляцию шейки желчного пузыря и устья пузырного протока, затем после холецистографии производят контроль «отключения» желчного пузыря от билиарного тракта, после чего с помощью специального прибора обрабатывают всю внутреннюю поверхность желчного пузыря водяным паром температурой 90-100<sup>0</sup>С в течение от 5 до 20 секунд, обработку паром повторяют 2-3 раза, затем устанавливается дренаж. При данном способе эндотрахеальный наркоз не требуется, достаточно внутривенного наркоза с сохранением спонтанного дыхания. При данном методе мукоклазии слизистая полностью некротизируется [61,72]. Предварительная облитерация пузырного протока и начальных отделов шейки желчного пузыря, а также неполная уверенность в отсутствии повреждений протоковой системы делают применение данного метода демукотизации желчного пузыря нерациональным и, в определённой мере, рискованным. Несмотря на все многообразие радикальных и декомпрессирующих оперативных вмешательств, многочисленных способов мукоклазии, проблема ЖКБ и острого холецистита у больных с высоким операционно-анестезиологическим риском остаётся актуальной. Возможности деэпителизации полости желчного пузыря и ее последствий изучены не до конца. С уверенностью можно говорить только о том, что деструкция слизистой оболочки под действием физических факторов является более многообещающим и безопасным направлением в развитии техники мукоклазии. Менее перспективными для изучения и модификации являются способы, при которых возникает необходимость в обязательной облитерации (обструкции) пузырного протока. Мы считаем, что в случаях, когда традиционная радикальная операция

сопряжена с высоким риском, наиболее перспективным является совершенствование метода термической мукоклазии без предварительной облитерации пузырного протока путём клипирования и облитерации посредством химических агентов [67,112]. Более того, сочетанное применение оперативного лечения и иммуномодуляторов представляется многообещающим с точки зрения купирования воспалительного процесса как в области желчного пузыря, так и всей зоны операционного вмешательства [52,91,102,151,172].

Существует и другой способ термической мукоклазии желчного пузыря, суть которого заключается в следующем: после холецистостомии и санации, в полость желчного пузыря вводят катетер с латексным баллоном на конце, заполняют баллон раствором фурацилина и рентгенконтрастным веществом, нагретым до 70<sup>0</sup>С, после чего оценивают демукотизацию с помощью раствора метиленовой сини. Данный способ не требует предварительной облитерации устья пузырного протока, предотвращает перфорацию желчного пузыря, не применяется электрокоагуляция, проводится рентгенологический контроль выполнения мукоклазии, применение раствора метиленовой сини позволяет провести оценку эффективности демукотизации и при необходимости сразу же выполнить повторный этап мукоклазии [24,25,62]. Однако для более быстрой облитерации полости желчного пузыря после проведения термической мукоклазии есть смысл применения стимуляторов роста соединительной ткани.

Наличие множества способов мукоклазии в проблеме ЖКБ и острого холецистита у больных с высоким операционно-анестезиологическим риском говорит о нерешенности этой задачи. Если полость желчного пузыря облитерируется неполностью, возможны образование кистоподобных полостей, реканализация устья пузырного протока с последующим рецидивом острого холецистита. Возможности дезэпителизации полости желчного пузыря и ее последствия не до конца изучены. С уверенностью можно говорить о том, что деструкция слизистой оболочки под действием физических факторов является более многообещающим и безопасным направлением в развитии техники мукоклазии. Менее перспективными для изучения и модификации являются

способы, при которых возникает необходимость в обязательной облитерации (обструкции) пузырного протока для последующей мукоклазии полости. Становится очевидным необходимость изучения процессов роста соединительной ткани после мукоклазии. Представляют огромный интерес закономерности смены фаз воспаления (альтерация, экссудация, пролиферация). Возникает вопрос: можно ли повлиять на процессы склерозирования, облитерации полости желчного пузыря, и на стабилизацию защитных сил организма у пациентов пожилого и старческого возраста?

#### **1.4. Особенности иммунитета у лиц пожилого и старческого возраста**

Говоря об иммунитете и его особенностях у лиц пожилого и старческого возраста, в первую очередь обращают внимание на изменения абсолютного и относительного количества субпопуляций Т-лимфоцитов, что отражает работу, главным образом, клеточного звена иммунитета, и содержание различных типов иммуноглобулинов и В-лимфоцитов, свидетельствующих о состоянии гуморального звена. Изменения в иммунной системе больных старшей возрастной группы происходят в двух основных направлениях. Во-первых, это недостаточность или угнетение иммунного ответа из-за нарушения дифференцировки иммунокомпетентных клеток. Во-вторых, наблюдается увеличение аутоиммунных реакций, нарушается распознавание собственных клеток организма [59,98,151]. В совокупности это приводит к формированию иммунодефицитных состояний в пожилом и старческом возрасте, сопровождающихся дисбалансом регуляторных лимфоцитов [9,81,85,143,169]. Возрастные изменения в системе иммунитета приводят к росту онкологической патологии, иммунодефицитных состояний и аутоиммунных заболеваний [8,117,158,166].

Снижение активности клеточного и гуморального звеньев иммунитета у лиц старшей возрастной группы приводит к хронизации процессов или преобладанию деструктивных форм острых процессов. Частое развитие деструктивных и

осложненных форм острого холецистита у пожилых больных может быть связано именно с этими возрастными иммунными особенностями [18,52,77,97,99,182].

Одной из причин неудовлетворительных исходов хирургических заболеваний у возрастных пациентов является низкая иммунологическая реактивность организма. Изменения происходят как в клеточном, так и в гуморальном звеньях иммунитета, нарушается фагоцитарная система, что приводит к развитию вторичных иммунодефицитов. Операционная травма усугубляет возрастное иммунодефицитное состояние и в значительной степени влияет на показатели иммунного статуса пациента. При отсутствии каких-либо патологических состояний в организме про- и противовоспалительные цитокины находятся в состоянии равновесия, но при нарушениях в системе иммунитета это приводит к избирательной активации определенной субпопуляции иммунокомпетентных клеток или клеток фагоцитарной системы [18,36,39].

В настоящее время лишь незначительное число хирургических заболеваний и оперативных вмешательств обходится без применения антибиотиков. В некоторых случаях применяют по 2-3 антибактериальных препарата. Несмотря на то, что влияние антибактериального препарата зависит от действующего вещества и его количества, большинство исследователей отмечают выраженное иммуносупрессивное действие большинства антибиотиков либо через диффузию в иммунокомпетентные клетки, либо с помощью рецепторов, расположенных на мембране [41,53,59,64,151].

Первоочередная роль в процессе старения всего организма и возрастных изменений иммунной системы отводится центральному органу иммуногенеза - тимусу. Возрастная инволюция тимуса происходит наиболее выражено по сравнению с другими органами. По мере старения тимус замещается жировой и соединительной тканью. Этот процесс начинается в ранние годы постнатального периода, набирает скорость после полового созревания организма и достигает максимума после 50 лет. Доказано, что масса лимфоидной ткани тимуса может не уменьшаться в зрелом возрасте, но изменения в органе всё равно будут носить инволютивный характер. Нарушается архитектоника дольчатого строения,

происходит гипоплазия клеточного окружения с изменением клеточных мембран, уменьшается абсолютное количество иммунокомпетентных клеток, увеличивается количество макрофагов и плазмоцитов [9,81,143,153].

Тимическое микроокружение, формируемое эпителиоретикулярными клетками, занимает ведущую роль в так называемом «обучении» Т-лимфоцитов. При его гипоплазии и изменениях мембран клеток нарушаются процессы нормального формирования и последующего функционирования тимус-зависимых лимфоцитов, что, в свою очередь, ведет к некорректному иммунному ответу. Это и недостаточный иммунный ответ на патогены, и рост аутоиммунных реакций. Инволютивные процессы в тимусе приводят к тому, что существенно ограничивается или совсем прекращается выработка новых Т-лимфоцитов. В.Е. Казимирчук очень точно сравнила иммунную и центральную нервную систему пожилых людей: «в обоих случаях хорошо сохраняется память на давно прошедшие события (для иммунной системы имеются в виду клетки памяти), но забываются события, происходившие в недавнем прошлом» [59].

Атрофические изменения в тимусе ведут к потере адекватного иммунного ответа на антигены, особенно на новые. Инволюция тимуса ведет к снижению общего числа Т-лимфоцитов, уменьшению интенсивности их пролиферации и дифференцировки. Нарушение пролиферации Т-клеток ведет к нарушению продукции ИЛ - 2, что, в свою очередь, будет влиять на дальнейшие звенья иммунного ответа. Возрастные изменения затрагивают и гуморальное звено. С возрастом нарушается дифференцировка В-лимфоцитов в плазматические клетки, а, следовательно, и продукция антител. Процессы старения иммунной системы были названы в 1999 году Ф.В. Семеновым «ригидным иммунным ответом», а А.П. Парахонским в 2005 году «возрастным иммунодефицитным состоянием» [99].

Наибольшие изменения иммунного статуса при старении происходят в Т-клеточном звене. Это проявляется снижением общего количества Т-лимфоцитов (СД3+), потерей их пролиферативной активности, падением функциональной активности Т-лимфоцитов. В большей степени изменения касаются Т-хелперов

(CD4+). Снижается выработка ИЛ - 2, что приводит к нарушению способности лимфоцитов реагировать на антигены. Уменьшается количество натуральных киллеров и содержание наивных клеток, с одновременным увеличением содержание клеток памяти. Как правило, снижается ИРИ (соотношение Т-хелперов к Т-супрессорам). Уменьшается количество цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8+), однако есть сведения и об их увеличении. В гуморальном звене нарушается дифференцировка В-лимфоцитов, уменьшается выработка IgG и IgA на фоне увеличения продукции IgM [59,81,117,194].

Изменения в иммунном статусе определяют по анализу иммунограмм пациентов. Тесты определения иммунного статуса делятся на две категории: I и II уровня. К определяемым параметрам тестов I уровня относятся: определение абсолютного и относительного числа лимфоцитов периферической крови, определение абсолютного и относительного количества Т и В-лимфоцитов, определение основных классов сывороточных иммуноглобулинов, определение фагоцитарной активности лейкоцитов. Фагоцитоз, как фактор врожденного иммунитета, оценивается по таким параметрам, как: фагоцитарный индекс (количество фагоцитов, участвующих в фагоцитозе (60 - 80%), фагоцитарное число - среднее количество частиц в одном фагоците (3 - 8), фагоцитарная емкость крови - количество микробов, которое могут поглотить фагоциты 1 л крови (12,5 - 25), количество активных фагоцитов - абсолютное число фагоцитирующих нейтрофилов в 1 л крови (1,6 - 5)) [98,117,159]. По показателям тестов II уровня анализируют: состав основных субпопуляций лимфоцитов, концентрацию циркулирующих иммунных комплексов, пролиферативный потенциал лимфоцитов с помощью реакции бластной трансформации, метаболическую активность нейтрофилов, активность естественных или натуральных киллеров (ЕК), способность продуцировать различные цитокины иммунокомпетентными клетками. В клинической иммунологии для определения вторичных иммунодефицитов, как правило, используют тесты I уровня и лишь некоторые параметры тестов II уровня [8,39,85,104].

### **1.5. Состояние иммунной системы при оперативных вмешательствах и остром холецистите**

Иммунная система очень чутко реагирует на изменения гомеостаза организма. Показатели иммунного статуса пациентов меняются при любой физической нагрузке, не говоря о таких серьезных стрессовых состояниях как развитие воспалительного процесса и острого холецистита в частности. Многими исследователями показано, что при ЖКБ и остром холецистите происходит снижение количества Т-лимфоцитов, в частности, активированных Т-лимфоцитов, Т-хелперов, Т-супрессоров, дисбаланс между субпопуляциями Т-лимфоцитов. Что касается гуморального звена, то происходит повышение содержания в крови иммуноглобулинов со снижением их сродства [18,77]. Прогрессирование заболевания и развитие деструктивной формы ведет к более серьезным иммунным нарушениям [52,91,102].

Оперативное вмешательство, в свою очередь, также ведет к прогрессированию иммунодефицитного состояния, так как сопровождается стрессовой реакцией организма на психоэмоциональном уровне и стрессовой реакцией на физическую травму. Состояние иммунитета усугубляется, в том числе, и препаратами для наркоза, входящими в анестезиологическое пособие. В раннем послеоперационном периоде отмечается еще большее снижение содержания в периферической крови Т-лимфоцитов и дисбаланс между популяциями CD3+ клеток, сопровождающийся снижением их активности, возрастанием частоты реакций гиперчувствительности замедленного типа и аллергических кожных реакций. О нарушениях в гуморальном иммунитете свидетельствуют изменения количества основных классов иммуноглобулинов. Наиболее чутко реагирует на перестройки в иммунной системе IgG. Фагоцитарная система реагирует на операцию уменьшением числа активированных фагоцитов, изменением фагоцитарного числа и, соответственно, фагоцитарной емкости крови. Синтез ИЛ-2 лимфоцитами снижается вследствие повышения экспрессии рецепторов к ИЛ-2 на мембране Т-лимфоцитов [8,52,59,85,151].

И. А. Чернов с соавт. указывают на то, что воспалительные изменения в брюшной полости характеризуются повышением в периферической крови Т-лимфоцитов с фенотипом CD3+ CD95+, то есть лимфоцитов с маркерами апоптоза. Авторы приводят сведения и о дисбалансе в системе цитокинов, например, о снижении концентрации ИЛ-2 на фоне резкого повышения концентрации в крови ИЛ-6, ИЛ-8, TNF-альфа. Изменения в иммунной системе прогрессируют с 7-х по 14-е сутки послеоперационного периода [41].

Значительные изменения претерпевает и местный иммунитет [10,43,127]. Например, при катаральном холецистите, когда воспалительные изменения находятся в стадии компенсации, повышается количество плазматических клеток, что является признаком нормального иммунного ответа [54]. При развитии флегмонозного или гангренозного холецистита происходит декомпенсация защитных механизмов местного иммунитета. Наблюдается снижение количества плазматических клеток, синтезирующих IgA, а, следовательно, и самого IgA, увеличение в очаге воспаления количества клеток неспецифической защиты - нейтрофилов, макрофагов. В кровеносном русле желчного пузыря, прилегающей к нему паренхиме печени, гепатодуоденальной связке и брюшине, прилежащей к очагу воспаления, повышается концентрация циркулирующих иммунных комплексов, что усугубляет течение воспалительного процесса и приводит к развитию деструктивных и осложнённых форм холецистита [18,39,52,91,161].

В ряде случаев ЖКБ, протекает в виде так называемой механической желтухи неопухолевого генеза. О.В. Смирнова и соавт. выявили связь между степенью тяжести течения механической желтухи (уровнем билирубина) и иммунной системой. Авторы установили, что у больных механической желтухой доброкачественного генеза развивается вторичный иммунодефицит, при котором страдает, главным образом, клеточное звено. Повышение уровня билирубина в крови более 200 мкмоль/л приводит к развитию тяжелой Т-клеточной иммунной недостаточности. Наблюдается дисбаланс в содержании NK-клеток. Их содержание повышается при уровне билирубина в крови менее 60 мкмоль/л и понижается при уровне билирубина выше 60 мкмоль/л, что свидетельствует о

наличии четкой взаимосвязи и влиянии уровня билирубина в крови пациента на состояние иммунной системы [91].

Таким образом, в литературе имеется достаточное количество доказательств снижения реактивности иммунной системы у лиц пожилого и старческого возраста. В процессе старения развивается вторичное иммунодефицитное состояние, которое значительно усугубляется наличием острого холецистита и связанным с ним оперативным вмешательством. Эти данные открывают широкие перспективы для использования иммуномодуляторов при лечении больных острым холециститом.

### **1.6. Применение Ронколейкина в клинической практике**

Одним из самых эффективных иммуномодуляторов считается отечественный препарат Ронколейкин. История его открытия уходит в 60-е годы прошлого столетия, когда было доказано, что лимфоциты выделяют биологически-активное вещество, некий медиатор, который инициирует множество иммунных реакций. В 1976 году D.A. Morgan и соавт. выделили медиатор и назвали его Т-клеточный ростовой фактор. Через 3 года его переименовали в ИЛ-2 [108,112]. Некоторое время препараты ИЛ-2 получали из донорской крови, поэтому широкого распространения они не получили. В 1983 году удалось получить генно-инженерный ИЛ-2. В нашей стране препараты генно-инженерного ИЛ-2 были получены в 1987 году [36,113,141,194].

Отечественные ученые получают рекомбинантный ИЛ-2 - Ронколейкин из клеток-продуцентов непатогенных пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* с помощью методов генной инженерии. За рубежом для получения препаратов ИЛ-2 используют в качестве клетки - продуцента рекомбинантный штамм *E. coli*. Вследствие использования в технологии получения специального белка, зарубежные препараты отличались большим количеством побочных эффектов и большей стоимостью. Поэтому в середине 2000-х годов препараты ИЛ-2 на основе пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, стали производиться и за рубежом [83,165].

В организме человека ИЛ-2 продуцируется, главным образом (90%), активированными CD4<sup>+</sup> лимфоцитами. Лишь 10% эндогенного ИЛ-2 вырабатывают цитотоксические CD8<sup>+</sup> лимфоциты. ИЛ-2 оказывает выраженное влияние на клетки иммунной системы и на процессы фагоцитоза. Наиболее подвержены влиянию ИЛ-2 стимуляции Т-лимфоциты. ИЛ-2 увеличивает пролиферативную активность Т-клеток, предохраняет активированные Т-лимфоциты от апоптоза и является ростовым фактором для CD8<sup>+</sup> лимфоцитов, повышая их цитотоксическую активность. В процессе иммунного ответа ИЛ-2 способствует формированию Т-клеток памяти. Помимо этого, ИЛ-2 повышает цитотоксическую активность НК-клеток, увеличивает спектр их цитотоксического действия, не оказывая при этом влияния на их пролиферативную активность. Моноциты отвечают на стимуляцию ИЛ-2 повышением противоопухолевой и антибактериальной активности, а также увеличением выработки медиаторов и биологически активных агентов, таких как простагландин E<sub>2</sub>, тромбоксан B<sub>2</sub>, TNF-α и активных форм кислорода. Влияние ИЛ-2 на В-лимфоциты проявляется повышением выработки основных классов иммуноглобулинов. ИЛ-2 увеличивает активность и клеток неспецифической защиты. В частности, он резко увеличивает антибактериальную и противогрибковую функцию нейтрофилов, активирует макрофаги, стимулирует процессы фагоцитоза, повышает содержание эозинофилов и тромбоцитов. ИЛ-2 стимулирует процессы репарации и регенерации, активируя пролиферацию фибробластов [64,160]. Помимо своих основных биологических эффектов, ИЛ-2 является важнейшим посредником во взаимодействиях иммунной, нервной и эндокринной систем [43,80,175,198].

Рекомбинантный препарат Ронколейкин (ИЛ-2) регулирует механизмы иммунного ответа. Применение этого препарата показано при первичных и вторичных иммунодефицитных состояниях. Вторичные иммунодефициты, как было сказано ранее, возникают на фоне возрастных изменений при острых воспалительных процессах, онкологических заболеваниях и при воздействии ионизирующего излучения. В большинстве случаев вторичное иммунодефицитное состояние проявляется недостаточностью Т-клеточного иммунитета и дисбалансом

цитокинов в крови. В начале это проявляется нарушением функций иммунокомпетентных клеток и фагоцитов. На более поздних стадиях происходит их непосредственное повреждение. Иммуномодуляторы на основе ИЛ-2 и Ронколейкин в частности используются для лечения заболеваний и состояний, сопряженных с вторичной иммунной недостаточностью [8,83,108,141].

В 2008 г. М.А. Куцоля и М.Б. Петрова в своём исследовании продемонстрировали, что применение Ронколейкина увеличивает количество активных фибробластов, ускоряет ангиогенез и эпителизацию кожной раны. Помимо влияния на специфические реакции иммунитета, Ронколейкин способствует благоприятному течению неспецифических реакций, ускоренной регенерации и обеспечивает завершение процессов заживления в среднем на 3-4 суток раньше, чем в контрольной группе [64].

Парентеральное введение Ронколейкина стимулирует миграцию иммунокомпетентных клеток и макрофагов в очаг воспаления, активизирует процессы фагоцитоза и ускоряет очищение повреждённого участка от раневого детрита. Применение Ронколейкина обеспечивает интенсивное проникновение лейкоцитов в очаг воспаления, ускоряет и активизирует смену фаз воспалительного процесса (альтерации экссудацией и экссудации пролиферацией) [77,126,162]. Помимо этого, Ронколейкин стимулирует функциональную активность фагоцитов и активизирует работу иммунокомпетентных клеток, что посредством каскада реакций иммунного ответа приводит к стимуляции эффективных клеток в очаге воспаления [48,81,113,142].

В результате применения Ронколейкина в лечении острого деструктивного панкреатита у больных в послеоперационном периоде уже после первой инъекции наблюдалась нормализация показателей иммунитета, а после третьего введения происходила нормализация всех основных показателей. Применяя Ронколейкин при остром деструктивном панкреатите, удалось добиться не только нормализации и улучшения показателей иммунной системы, но и уменьшения системной воспалительной реакции, что в дальнейшем предупреждало развитие гнойно-воспалительных осложнений. Включение Ронколейкина в терапию острого

панкреатита позволило снизить число осложнений на 19,3% и уменьшить летальность [69,83,92,108,142].

В 2007 г. А.З. Гусейнов и соавт. тоже применяли Ронколейкин в лечении больных острым панкреатитом и отметили изменение течения воспалительного процесса, ускорение регенерации тканей поджелудочной железы, наличие детоксикационного эффекта [36].

В комплексной терапии перитонита Ронколейкин, помимо прямого иммунокорригирующего действия, проявил свои отличные детоксикационные и антибактериальные эффекты, что позволило уменьшить летальность и сократить количество койно-дней пребывания больных в стационаре [64,119,127].

Таким образом, из приведенных литературных данных следует, что заболеваемость ЖКБ и острым холециститом остается на высоком уровне, увеличивается число пациентов пожилого и старческого возраста с сопутствующей патологией, являющейся нередко противопоказанием для радикального оперативного лечения. Применение дренирующих желчный пузырь вмешательств у этой категории больных позволяет остановить воспалительный процесс, но не ликвидировать ЖКБ, оставляя почву для рецидива острого холецистита. Немалый интерес представляет применение «традиционной» холецистостомии для купирования острого холецистита, а использовав мукоклазию желчного пузыря, можно добиться радикальности операции. Иммунная система у лиц пожилого и старческого возраста находится в состоянии вторичного иммунодефицита. Острый холецистит способствует прогрессированию иммунодефицитного состояния, что приводит к преобладанию деструктивных форм острого холецистита у данной категории больных и несоответствию клинической картины изменениям, происходящим в стенке желчного пузыря. Остаются открытыми вопросы радикального лечения острого холецистита у лиц с высоким операционно-анестезиологическим риском, тактики иммунной коррекции, влияния иммунологических препаратов на течение процессов репарации в стенке желчного пузыря. Даже среди пациентов высокого операционно-анестезиологического риска необходим дифференцированный подход к выбору дренирующей операции. В

связи с этим, мы считаем целесообразным разработку прогностической шкалы оценки тяжести состояния больных острым холециститом с высоким операционно-анестезиологическим риском.

Значительный интерес представляет разработка и совершенствование способов радикального лечения острого холецистита у лиц с высоким операционно-анестезиологическим риском с использованием методик, способствующих облитерации полости желчного пузыря и одновременной коррекцией вторичного иммунодефицита и стимуляцией процессов репарации и организации в стенке желчного пузыря. В связи с этим, целью настоящего исследования стало изучение: 1) возрастных особенностей течения острого холецистита у пациентов различных возрастных групп с акцентом на изучение показателей их иммунного статуса, 2) возрастных особенностей морфологических изменений в желчном пузыре при остром холецистите, 3) влияния методики оперативного лечения острого холецистита на течение послеоперационного периода у пациентов старших возрастных групп с сопутствующей патологией, 4) возможности использования иммуностимулятора Ронколейкин для лечения острого холецистита, 5) механизмов иммуностимулирующего действия препарата Ронколейкин, а также его влияние на репаративные процессы в экспериментальной модели мукоклазии желчного пузыря.

## ГЛАВА 2. Материалы и методы исследования

### 2.1. Экспериментальное исследование

Экспериментальное исследование было выполнено на разнополых кроликах (всего 31) породы «шиншилла» весом  $2,5 \pm 0,15$  кг. Содержание и уход за животными, забор крови, оперативные вмешательства и другие манипуляции, включая выведение животных из эксперимента, осуществлялись в строгом соответствии с требованиями Приказов № 755 МЗ СССР от 12.08.1977 г., № 701 от 27.07.1978 г., «Хельсинкской Декларации по вопросам медицинской этики» и «Международных рекомендаций по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1989 г.).

Экспериментальные животные были промаркированы от 1 до 31, что позволило вести таргетный контроль за показателями крови и морфологии каждого животного до и после операции, и разделены на 4 группы по 7 животных, соответственно срокам выведения из эксперимента (7-е, 14-е, 17-е и 21-е сутки), трем экспериментальным животным не проводилось оперативное вмешательство и не вводился препарат, а выполнялось исследование гематологического статуса на 7-е, 14-е, 17-е и 21-е сутки. В каждой группе животные были разделены на 2 подгруппы: контрольную (3 кролика), которым производилась мукоклазия желчного пузыря без введения препарата и опытную (4 кролика), которым проводилась мукоклазия и подкожно вводили препарат Ронколейкин в дозе 25 000 МЕ на 1-е, 3-и и 5-е сутки после оперативного вмешательства (таблица 1). Животных выводили из эксперимента путём передозировки средств для наркоза на 7-е, 14-е, 17-е и 21-е сутки после операции. Все животные содержались в одинаковых условиях, включая режим кормления.

Содержание, кормление, уход, забор крови, оперативное вмешательство, перевязки, наблюдение в послеоперационном периоде и выведение животных из эксперимента выполнялось на базе ветеринарной клиники учебно-опытного хозяйства «Знаменское» ФГБОУ ВО Курская СХА.

Таблица 1 - Группы экспериментальных животных

Количество животных	Сроки животных выведения после операции							
	7-е сутки		14-е сутки		17-е сутки		21-е сутки	
	контр.	опытн.	контр.	опытн.	контр.	опытн.	контр.	опытн.
	3	4	3	4	3	4	3	4
7		7		7		7		

Примечание: контр. - контрольная подгруппа; опытн. - опытная.



Рисунок 1 – Ронколейкин для использования в ветеринарии. Раствор для парентерального введения.

Исследование общего анализа крови у экспериментальных животных проводилось за день перед операцией и в день выведения из эксперимента. Забор крови проводили из ушных вен при помощи шприца 3 мл и инсулиновой иглы, на гематологическом анализаторе Abacus vet-10 (Австрия) (рисунок 1).

Методика и объём оперативного вмешательства во всех подгруппах были одинаковыми. За день перед операцией готовили операционное поле и выполняли забор крови для гематологического исследования. С целью премедикации перед операцией внутримышечно вводили раствор седативного, анальгезирующего и миорелаксирующего средства – ксилы, из расчёта 0,15 мл на 1 кг массы тела животного.



Рисунок 2 – Гематологический анализатор Abacus vet-10. Специальный ветеринарный, автоматический, гематологический анализатор, дифференцирующий лейкоциты на 3 подгруппы: гранулоциты, лимфоциты, моноциты.

Спустя 10-15 минут фиксировали животное на операционном столе, выполняли обработку операционного поля йодпироном или 70% раствором спирта, проводили инфильтрационную анестезию области правого подреберья 0,25% раствором новокаина, после чего выполняли лапаротомию в правом подреберье косым разрезом (рисунок 3). В рану выводили долю печени с желчным пузырем. Под визуальным контролем, с осторожностью, лигировали пузырный место перехода шейки желчного пузыря в пузырный проток, добиваясь тем самым отключения желчного пузыря от протоковой системы. В дальнейшем выполняли пункцию области дна желчного пузыря (рисунок 4), аспирировали желчь. Не вынимая иглы, чтобы не создавать дополнительных проколов, заполняли желчный пузырь предварительно нагретым до 70<sup>0</sup>С, раствором фурацилина на 3 мин. (рисунок 5). Раствор фурацилина меняли каждую минуту. После аспирации раствора желчный пузырь сморщивался (рисунок 6). Затем производили послойное ушивание брюшной полости и накладывали асептическую повязку (рисунок 7).



Рисунок 3 – Выполнение инфильтрационной анестезии области правого подреберья после предварительной обработки операционного поля раствором йодпирона.



Рисунок 4 – Выведение доли печени с желчным пузырем, «отключение» желчного пузыря от желчевыводящих протоков, пункция в области дна и аспирация желчи.



Рисунок 5 – Заполнение желчного пузыря предварительно нагретым до 70<sup>0</sup>С раствором фурацилина. Термическая мукоклазии желчного пузыря.



Рисунок 6 – Внешний вид желчного пузыря после проведения термической мукоклазии.



Рисунок 7 – Послойное ушивание брюшной полости, последний этап операции- наложение одиночных узловых швов на кожу.

После выведении животных из эксперимента изучали макроскопическое состояние зоны оперативного вмешательства, реакцию брюшины, наличие экссудации, спаек, их распространённость. Оценивали состояние печени. Для гистологического исследования удаляли участок желчного пузыря с прилежащим участком печеночной паренхимы, отдалённый от зоны операции участок печени, тимус, лимфатические узлы брюшной полости. Полученный материал фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина и заливали в парафин по общепринятой методике. Срезы толщиной 7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином и по Ван-Гизон. Гистологические срезы изучали под световым микроскопом Leica (Германия) и фотографировали цифровой фотокамерой Olympus SP350. С помощью компьютерной программы ImageJ определяли толщину коркового и мозгового вещества долек тимуса, ширину корковой зоны лимфатических узлов брюшной полости и толщину стенки желчного пузыря при увеличении  $\times 40$  [26,65]. Площадь гепатоцитов и их ядер, плотность расположения различных клеток соединительной ткани (фибробластов, лимфоцитов, макрофагов)

на площади 50 x 50 мкм определяли при увеличении x400, следующим образом: в каждом микропрепарате производился подсчет определенного вида клеток в 10-и «стандартных полях зрения», полученное количество делилось на число исследуемых полей зрения, в результате получалось среднее число клеток на каждом исследуемом сроке. Оценку интенсивности окрашивания коллагеновых волокон проводили полуколичественным способом при окраске по Ван – Гизон. Морфологическое и цитометрическое исследование гистологических препаратов проводилось под руководством научного руководителя, доцента кафедры гистологии, эмбриологии, цитологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ к.м.н. Т.А. Ишуниной.

## 2.2. Клиническое исследование

### **Возрастные особенности реактивности организма при остром холецистите.**

Проанализированы данные 60 историй болезней больных острым холециститом четырёх возрастных групп по 15 пациентов согласно классификации ВОЗ: 1) молодой возраст (18-44 года); 2) средний возраст (45-59 лет); 3) пожилой возраст (60-74 года); 4) старческий возраст (75-90 лет), которые поступили в экстренном порядке, проходили обследование и стационарное лечение в отделении гнойной хирургии и хирургическом отделении БМУ «КОКБ» в период с 2012 по 2015 годы включительно.

В качестве критериев для отбора пациентов использованы следующие данные: 1) возраст от 18 до 90 лет; 2) установленный и подтвержденный диагноз – ЖКБ. Острый холецистит; 3) оперативное лечение.

В исследовании не участвовали пациенты с наличием: 1) возраста менее 18 лет и более 90 лет; 2) положительных анализов на ВИЧ, гепатиты, МР; 3) консервативного лечения острого холецистита; 4) беременности; 5) подтвержденной онкологической патологией.

Проанализированы показатели красной крови (концентрации эритроцитов и уровень гемоглобина), лейкоцитарной формулы (концентрации лейкоцитов, процентное содержание сегментоядерных и палочкоядерных нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов и эозинофилов) и биохимического анализа крови (уровень билирубина, АСТ, АЛТ, амилазы мочевины, креатинина и общего белка) до оперативного вмешательства и на 1-е и 5-е сутки после него.

### **Морфологическое исследование желчного пузыря у пациентов с острым холециститом различных возрастных групп.**

Морфологические изменения оценивали на биопсийном материале желчного пузыря, взятого во время операции у 24 пациентов, поступивших с диагнозом острого холецистита в хирургическое отделение КГКБ №4 г. Курска (г. Курск).

Критериями включения являлись: возраст пациентов от 18 до 90 лет; установленный патологоанатомический диагноз острый флегмонозный холецистит. Пациенты были разделены на четыре группы по 6 человек в каждой согласно возрастной классификации ВОЗ. Препараты заливали в парафин по стандартной методике и окрашивали гематоксилином и эозином. Под микроскопом с увеличением в 600 раз подсчитывали плотность расположения фибробластов, лимфоцитов, макрофагов, нейтрофилов, эозинофилов и моноцитов в соединительной ткани слизистой оболочки и наружной соединительнотканной основы (адвентиции) на площади  $0,25 \text{ см}^2$ . С помощью компьютерной программы ImageJ определяли размеры ядер покровного эпителия желчного пузыря и ядер гладко-мышечных клеток мышечной оболочки. Посредством полуколичественного анализа устанавливали различия в степени выраженности: 1) атрофии слизистой оболочки, 2) разобщённости гладких миоцитов и их пучков в мышечной оболочке вследствие атрофических и дистрофических изменений и разрастания соединительной ткани и 3) фиброзных изменений в наружной соединительнотканной оболочке. Степень выраженности каждого критерия оценивалась по шкале баллов: 1 – изменения незначительны, 2 – выражены умеренно, 3 – выражены значительно, 4 – максимальная степень выраженности. Для атрофии слизистой оболочки 4 балла присваивались в случае её полного отсутствия либо наличия на маленьком фрагменте препарата, 3 балла – складки слизистой невысокие, сильно сглажены, часто отсутствует покровный эпителий, 2 – складки слизистой визуализируются хорошо, местами сглажены, 1 балл – явления атрофии выражены минимально. Для разобщённости гладко-мышечных клеток 4 балла соответствовали значительной атрофии мышечной оболочки, проявляющейся редкими/единичными пучками мышечных клеток, разделёнными широкими прослойками соединительной ткани, превышающими размеры мышечных пучков, 3 балла – значительная разобщённость, проявляющаяся уменьшением плотности и количества гладких миоцитов, при этом мышечная оболочка разделена прослойками соединительной ткани, а мышечные пучки фрагментированы вследствие фиброзных изменений, 2 балла – разобщённость в большей степени

касается гладких миоцитов внутри пучков, мышечная оболочка может выглядеть несколько истончённой с просветами между мышечными клетками и небольшими пространствами между пучками, 1 – атрофические и дистрофические изменения минимальны. Степень фиброза наружной соединительнотканной (адвентициальной) оболочки косвенно оценивалась по количеству и плотности расположения коллагеновых волокон. В этом случае 4 и 3 балла соответствовали наличию плотных гомогенных фиброзных полей и плотных коллагеновых конгломератов, а 1 и 2 балла присваивались в зависимости от количества и плотности волокон, которые чётко визуализировались как отдельные волокна (1), либо как пучки (2) [58].

#### **Обследование и лечение пациентов высокого операционно-анестезиологического риска с острым холециститом.**

Проведено полное обследование 46 пациентов в возрасте от 61 до 88 лет с высокой степенью операционно-анестезиологического риска, которым проведено оперативное лечение острого холецистита с использованием разных типов дренирующих операций в хирургическом отделении КГКБ №4 г. Курска за 2015-2017 гг. Критериями включения больных в исследование являлись: возраст от 60 до 90 лет; установленный (клинически и лабораторно-инструментально) диагноз – ЖКБ. Острый холецистит; оперативное лечение. В исследовании не участвовали пациенты с наличием: положительных анализов на ВИЧ, гепатиты, МР; подтвержденной онкологической патологией. Лабораторные показатели (общий анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови (общий белок, мочевины, креатинин, билирубин, АСТ, АЛТ, амилаза)) рассматривались в динамике до оперативного вмешательства и на 1-е и 5-е сутки после него. Выполнялись рентгеноскопия органов брюшной и грудной полости, ультразвуковое исследование органов брюшной полости (УЗИ) (печени и желчных путей, поджелудочной железы), ЭКГ, проводились консультации специалистов. Всем пациентам при поступлении выполнялась ФГДС с осмотром БСДК с использованием дуоденоскопа фирмы Olympus GF type 1 T-30.

Особое внимание уделяли сонографическим признакам деструкции желчного пузыря и патологии желчевыводящих путей. Исследования выполнялись ультразвуковым сканером Aloka Prosound ALPHA 6 (Япония) (рисунок 8).



Рисунок 8 – Ультразвуковой сканер Aloka Prosound Alpha 6. Представленный аппарат обладает высокой диагностической точностью, множеством режимов исследования, широкой областью применения, простотой использования.

После обследования пациентам проводилась консервативная терапия, направленная на устранение болевого синдрома, коррекцию сердечно-сосудистой и дыхательной деятельности, дезинтоксикацию, восстановление объема циркулирующей крови. С учетом принятых клинических рекомендаций стремились быстрее ликвидировать внутрипузырную гипертензию. Для купирования болевого синдрома использовались спазмолитики и ненаркотические анальгетики (баралгин, но-шпа, папаверин). Инфузионная терапия проводилась

под контролем артериального давления, почасового диуреза. Для коррекции нарушений электролитного и кислотно-щелочного состояний применяли 4% раствор калия хлорида, раствор Рингера, 5% раствор бикарбоната натрия, 0,9% раствор хлорида натрия. Антибактериальная терапия проводилась антибиотиками широкого спектра действия. После микробиологического исследования содержимого желчного пузыря дальнейшее лечение осуществлялось с учетом чувствительности к соответствующему антибактериальному препарату. Профилактику тромбоэмболических осложнений проводили с использованием эластической компрессии и введением профилактических и лечебных доз гепарина. Коррекцию сопутствующих заболеваний осуществляли в соответствии с заключением и рекомендациями профильных специалистов. Вышеуказанное консервативное лечение продолжали и в послеоперационном периоде.

С учетом целей и задач диссертационной работы пациенты были разделены на 2 группы: 1) 20 пациентов, которым осуществляли ЧЧМХС и 2) 26 пациентов, которым выполняли «традиционную» холецистостомию и термическую мукоклазию желчного пузыря. ЧЧМХС проводилась по следующей методике. Под УЗ-контролем после местной анестезией раствором новокаина 0,25% - 40,0 мл выполняли прокол передней брюшной стенки в XI-ом межреберье или подреберье справа. Под прямым ультразвуковым контролем выполнялась толстоигольная пункция желчного пузыря через тонкий слой печени. Осуществляли санацию полости желчного пузыря. Затем под УЗ-контролем устанавливали проводник. По проводнику на интубаторе в просвет желчного пузыря устанавливали дренаж с памятью формы, позиционировали. Дренаж подшивали к коже.

Пациентам 2 - ой группы выполняли традиционную холецистостомию под местным обезболиванием раствором новокаина 0,25% и внутривенной седацией, во время которой проводили санацию полости желчного пузыря с литоэкстракцией. Затем через холецистостомическое отверстие устанавливали гильзу троакара, через которую вводили ригидную оптику диаметром 10 мм, чтобы проконтролировать адекватность санации желчного пузыря и, при необходимости, удалить оставшиеся конкременты. Затем проводили рентгенологическое исследование внепеченочных

желчных путей. Убедившись в проходимости желчных протоков, приступали к мукоклазии желчного пузыря. С этой целью в его полость вводили катетер с латексным баллоном на конце. Затем баллон с помощью шприца заполнялся предварительно нагретым до 70<sup>0</sup>С раствором фурацилина с рентгенконтрастным веществом урографинном в пропорции 5:1 до тех пор, пока баллон не принял контуры желчного пузыря. Контрастное вещество, введенное в баллон, дает возможность осуществить визуальный контроль за наполнением баллона и добиться плотного соприкосновения со всеми стенками желчного пузыря. Время экспозиции составляло 10 мин., поэтому раствор периодически меняли для поддержания температурного режима на оптимальном уровне. По истечении 10 минут раствор эвакуировали через шприц, баллонный катетер удаляли. Контролировали демукотизацию с помощью эндоскопа, предварительно обработав полость желчного пузыря 1% раствором метиленовой сини. Время экспозиции составляло 5 мин., после чего краситель смывался фурацилином. При этом участки с погибшим эпителием слизистой оболочки окрашивались в синий цвет. С неповрежденных участков краситель без труда смывался. При наличии неокрашенных участков мукоклазию повторяли, но в более щадящем режиме - 65<sup>0</sup>С со временем экспозиции 7 минут. После аспирации фурацилина с помощью отсоса, в полость желчного пузыря устанавливали дренаж для оттока экссудата [25]. На 5-е сутки после проведения термической мукоклазии применяли активное дренирование полости желчного пузыря с помощью дренажа Редона, чтобы демукотизированные стенки полости желчного пузыря вплотную прилегали друг к другу. При непосредственном контакте между стенками желчного пузыря из его полости быстрее удаляется скапливающийся экссудат и некротизированная слизистая оболочка.

Больные 2-ой группы были разделены на две подгруппы: контрольную, в которую вошло 14 пациентов, которым проводилась описанная выше мукоклазия желчного пузыря и основную, 12 пациентам которой помимо мукоклазии в раннем послеоперационном периоде подкожно вводили иммуностимулятор Ронколейкин в дозе 500 000 МЕ (0,5 мг) на 1-е и 3-и сутки для активизации иммуногенеза и

стимуляции роста соединительной ткани с целью более быстрой облитерации желчного пузыря. Процесс и скорость облитерации полости желчного пузыря контролировали с помощью УЗИ.

Оценку иммунного статуса пациентов обеих подгрупп производили до операции (на момент поступления) и на 7-е сутки после проведения термической мукоклазии желчного пузыря. Исследование производили с помощью Системы проточной цитометрии Cytomics FC 500 (Beckman-Coulter; США) (рисунок 9).



Рисунок 9 – Система проточной цитометрии Cytomics FC 500 дает возможность проводить как рутинные гематологические исследования, так и сложные исследования субпопуляций лимфоцитов. Имеет программное обеспечение СХР.

Определяли % и абсолютные значения всей популяции лимфоцитов, CD3+(Т-лимфоцитов), CD3+CD4+ (Т-хелперов), CD3+CD8+ (Т-ЦТЛ, цитотоксических или Т-киллеров), CD3-CD19+(В-лимфоцитов), CD3-CD16+CD56+ (NK, натуральных киллеров), CD3+CD16+CD56+ (Т-NK), ИРИ CD3+CD4/CD3+CD8+, CD3-CD19-(0-лимфоцитов), CD3+HLA-DR+ (зрелых, активированных лимфоцитов), CD3-HLA-DR+ (активированных NK). Производилась оценка фагоцитарного показателя

(относительное количество нейтрофилов, участвующих в фагоцитозе), фагоцитарного числа (количество микробных тел, поглощенных одним фагоцитом), количество активных фагоцитов (абсолютное количество фагоцитирующих нейтрофилов в 1 л крови), фагоцитарная емкость крови (количество микробных тел, которое могут поглотить нейтрофилы 1 л крови) и содержания иммуноглобулинов классов Ig G, Ig A, Ig M, Ig E.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета программ «Microsoft office 2013» [118]. Определяли значения среднего арифметического ( $M$ ), среднеквадратической (стандартной) ошибки среднего арифметического ( $m$ ). Достоверность различий среди изучаемых групп оценивали с помощью параметрических тестов и критерия Манна-Уитни [12,82]. Для определения корреляционной зависимости между изучаемыми параметрами и возрастом использовали коэффициент Пирсона ( $r$ ).

## ГЛАВА 3. Результаты экспериментальных исследований

### 3.1. Гематологические показатели экспериментальных животных.

В соответствии с целями и задачами нашего исследования для изучения гематологического статуса экспериментальные животные были разделены на 4 группы по 7 животных, соответственно срокам выведения из эксперимента (7-е, 14-е, 17-е и 21-е сутки). В каждой группе животные были разделены на 2 подгруппы: контрольную (3 кролика), которым производилась мукоклазия желчного пузыря без введения препарата и опытную (4 кролика), которым проводилась мукоклазия и вводили препарат Ронколейкин в дозе 25 000 МЕ на 1-е, 3-и и 5-е сутки после оперативного вмешательства.

На 7-е сутки после мукоклазии концентрация эритроцитов, тромбоцитов, гемоглобина и гематокрит у всех экспериментальных животных по сравнению с дооперационным уровнем достоверно не изменялась.

На 14-е сутки концентрация эритроцитов (на 17,8%,  $p=0,01$ ) и гемоглобина (на 11,8%,  $p=0,01$ ) у животных опытной подгруппы, получавших после операции Ронколейкин, были достоверно выше по сравнению с контрольной подгруппой. На этом сроке гематокрит достоверно снижался у всех экспериментальных животных по сравнению с дооперационным уровнем и более значительно в контрольной подгруппе ( $p=0,01$ ), чем в опытной ( $p=0,048$ ). Достоверных отличий показателей «красной» крови, гематокрита и концентрации тромбоцитов по сравнению с животными, выведенными на 7-е сутки, выявлено не было.

На 17-е сутки отмечалось значительное падение концентрации гемоглобина как в контрольной ( $p=0,005$ ), так и опытной ( $p=0,026$ ) подгруппах по сравнению с дооперационными значениями. Концентрация гемоглобина у опытной подгруппы на 17-е сутки ниже данного параметра животных, выведенных из эксперимента на 7-е ( $p=0,043$ ) и 14-е сутки ( $p=0,0002$ ). При этом количество эритроцитов ( $p=0,031$ ) и гематокрит ( $p=0,011$ ) у животных опытной подгруппы на 17-е сутки ниже, чем 14-е сутки наблюдения. Гематокрит к 17-м суткам достоверно ниже в опытной ( $p=0,006$ ) и в контрольной ( $0,005$ ) подгруппах по сравнению с гематокритом

животных, выведенных из эксперимента на 7-е сутки. Концентрация тромбоцитов по сравнению с дооперационными значениями достоверно увеличивается в контрольной ( $p=0,018$ ) и ещё более значительно в опытной (в 1,44 раза,  $p=0,0009$ ) подгруппе (таблица 2).

Несмотря на то, что концентрация эритроцитов и гемоглобина экспериментальных животных обеих подгрупп на 21-е сутки увеличивается и даже превышает дооперационный уровень, статистически достоверных различий по сравнению со значениями животных, выведенными на других сроках, не установлено. Концентрация тромбоцитов в опытной подгруппе животных на 21-е сутки достоверно (в 1,64 раза,  $p=0,0003$ ) выше по сравнению со значениями до мукоклазии и по сравнению с показателями опытных животных, выведенных из эксперимента на 14-е сутки ( $p=0,0008$ ).

Таблица 2 – Показатели красной крови, гематокрита и тромбоцитов экспериментальных животных

Сроки забора крови, сут.	Группа	Среднее значение (M)±, средняя ошибка средней арифметической (m)			
		Эритроциты, количество клеток $\times 10^{12}$ на 1 л крови	Гемоглобин, г/л	Гематокрит, %	Тромбоциты, количество клеток $\times 10^9$ на 1 л крови
До опер.	28 животных	4,97±0,13	111,1±1,36 <sup>5; 6</sup>	32,87±0,79 <sup>3; 4</sup>	230,29±4,91 <sup>13</sup>
I группа (7-е сут.)	контр.	5,06±0,16	106,33±2,94 <sup>7</sup>	30,80±0,88 <sup>12</sup>	262,67±28,47
	опытн.	5,16±0,15	108,50±4,04	31,07±0,96 <sup>11</sup>	306,50±34,74
II группа (14-е сут.)	контр.	4,48±0,43 <sup>1</sup>	101,00±6,48 <sup>2</sup>	27,05±2,49 <sup>3</sup>	223,33±4,32
	опытн.	5,45±0,19 <sup>1; 9</sup>	114,5±0,58 <sup>2; 8</sup>	30,68±1,20 <sup>4; 10</sup>	247,50±6,89 <sup>14</sup>
III группа (17-е сут.)	контр.	5,10±0,30	105,33±2,68 <sup>5</sup>	27,07±0,53 <sup>12</sup>	416,00±76,58
	опытн.	4,72±0,32 <sup>9</sup>	100,25±2,33 <sup>6; 7; 8</sup>	25,65±1,48 <sup>10; 11</sup>	332,00±24,86
IV группа (21-е сут.)	контр.	5,72±0,64	117,00±14,76	29,69±3,02	326,67±43,20
	опытн.	5,29±0,46	107,25±5,62	26,80±1,92	377,50±26,82 <sup>13; 14</sup>

Примечание: контр. - контрольная подгруппа, животным которой проводилась термическая мукоклазия; опытн. - опытная подгруппа, животным которой проводилась термическая мукоклазия с последующим введением Ронколейкина. 1-  $p=0,01$ ; 2-  $p=0,01$ ; 3-  $p=0,01$ ; 4-  $p=0,048$ ; 5-  $p=0,005$ ; 6-  $p=0,026$ ; 7-  $p=0,043$ ; 8-  $p=0,0002$ ; 9-  $p=0,031$ ; 10-  $p=0,011$ ; 11-  $p=0,006$ ; 12-  $p=0,005$ ; 13-  $p=0,0003$ ; 14-  $p=0,0008$ .

Таким образом, у животных контрольной подгруппы после проведения мукоклазии содержание эритроцитов и концентрация гемоглобина уменьшаются к 14-м суткам, возрастают к 17-м и продолжают увеличиваться до 21-х суток. У животных опытной подгруппы увеличение концентраций эритроцитов и гемоглобина отмечается уже с 7-х по 14-е сутки, после некоторого снижения на 17-е сутки происходит дальнейший рост этих показателей до 21-х суток. Полученные данные свидетельствуют о наличии у Ронколейкина стимулирующего влияния на эритропоэз.

Концентрация лейкоцитов у опытных животных на 7-е сутки после операции достоверно (в 2,29 раза,  $p=0,01$ ) увеличивается по сравнению с дооперационным уровнем и достоверно превышает значения контрольных животных (в 2,24 раза,  $p=0,05$ ) (рисунок 10). Такие же изменения отмечены и для лимфоцитов. Их концентрация у животных опытной группы значительно (в 2,47 раза,  $p=0,04$ ) выше, чем до операции и по сравнению с контрольными животными (в 2,36 раза,  $p=0,05$ ) (таблица 3). Достоверных изменений по сравнению с дооперационными значениями и отличий между животными опытной и контрольной подгрупп для концентраций моноцитов и гранулоцитов на 7-е сутки не выявлено.

На 14-е сутки после оперативного вмешательства у животных опытной подгруппы содержание лейкоцитов (в 2,35 раза,  $p=0,001$ ), лимфоцитов (в 2,85 раза,  $p<0,0001$ ) и моноцитов (в 1,96 раза,  $p=0,01$ ) было выше по сравнению с дооперационными значениями. Концентрация лимфоцитов достоверно (в 1,74 раза,  $p=0,001$ ) превышала показатели контрольной подгруппы (таблица 4). Достоверных изменений концентраций лейкоцитов, лимфоцитов, моноцитов, гранулоцитов с 7-х по 14-е сутки установлено не было.

Таблица 3 – Показатели лейкоцитарной формулы экспериментальных животных на 7-е сутки после мукоклазии (I группа)

Показатель	Среднее значение (M) ± средняя ошибка средней арифметической (m)		
	До операции	I группа (7-е сут. после операции)	
		контр.	опытн.
Лейкоциты, $\times 10^9$ на литр крови	6,57±0,37 <sup>1</sup>	6,69±3,15 <sup>2</sup>	15,02±3,57 <sup>1; 2</sup>
Лимфоциты, $\times 10^9$ на литр крови	5,22±0,28 <sup>3</sup>	5,47±2,27 <sup>4</sup>	12,90±4,06 <sup>3; 4</sup>
Моноциты, $\times 10^9$ на литр крови	0,22±0,03	0,29±0,18	0,40±0,11
Гранулоциты, $\times 10^9$ на литр крови	1,18±0,26	0,92±0,71	1,72±1,33
Лимфоциты, %	78,28±2,36	84,53±4,40	83,85±11,97
Моноциты, %	5,48±0,86	4,33±1,49	2,63±0,41
Гранулоциты, %	15,61±2,54	11,17±4,46	13,53±11,66

Примечание: 1- p=0,01; 2- p=0,05; 3- p=0,04; 4- p=0,05.

На 17-е сутки показатели лейкоцитарной формулы экспериментальных животных не отличались от дооперационных показателей (таблица 5). Достоверных различий для абсолютных и относительных значений лейкоцитов, лимфоцитов, моноцитов и гранулоцитов между опытной и контрольной подгруппами установлено не было. На этом сроке у животных опытной подгруппы происходило снижение концентрации лейкоцитов и моноцитов по сравнению с показателями, зарегистрированными на 7-е (p=0,03) и 14-е сутки (p=0,0009 для лейкоцитов, p=0,002 для моноцитов), а содержание лимфоцитов было достоверно ниже, чем у контрольных животных на 14-е (p=0,0007) сутки (рисунок 11). Следует отметить достоверное снижение концентрации моноцитов в контрольной подгруппе по сравнению со значениями на 14-е сутки (p=0,04).

Таблица 4 – Показатели лейкоцитарной формулы экспериментальных животных на 14-е сутки после мукоклазии (II группа)

Показатель	Среднее значение (M) ± средняя ошибка средней арифметической (m)		
	До операции	II группа (14-е сут. после операции)	
		конт.	опытн.
Лейкоциты, $\times 10^9$ на литр крови	6,57±0,37 <sup>1</sup>	8,94±0,61	15,43±1,02 <sup>1</sup>
Лимфоциты, $\times 10^9$ на литр крови	5,22±0,28 <sup>2</sup>	8,57±0,52 <sup>4</sup>	14,89±1,03 <sup>2;4</sup>
Моноциты, $\times 10^9$ на литр крови	0,22±0,03 <sup>3</sup>	0,45±0,19	0,43±0,03 <sup>3</sup>
Гранулоциты, $\times 10^9$ на литр крови	1,18±0,26	0,25±0,09	0,11±0,03
Лимфоциты, %	78,28±2,36	92,33±3,34	96,50±0,33
Моноциты, %	5,48±0,86	6,60±1,90	2,78±0,22
Гранулоциты, %	15,61±2,54	2,83±1,43	0,73±0,25

Примечание: 1-  $p=0,001$ ; 2-  $p<0,0001$ ; 3-  $p=0,01$ ; 4-  $p=0,001$ .

На 21-е сутки в опытной подгруппе концентрация лейкоцитов ( $p=0,043$ ) и лимфоцитов ( $p=0,043$ ) была ниже, чем у животных на 14-е сутки, а концентрация моноцитов ниже, чем на 7-е сутки ( $p=0,031$ ) (рисунок 12). В контрольной подгруппе концентрация гранулоцитов значительно ниже соответствующих значений на 7-е сутки (рисунок 13). Как у опытных ( $p=0,005$ ), так и у контрольных ( $p=0,044$ ) животных концентрация гранулоцитов на этом сроке оказалась достоверно ниже, чем до операции (таблица 6).

Таблица 5 – Показатели лейкоцитарной формулы экспериментальных животных на 17-е сутки после мукоклазии (III группа)

Показатель	Среднее значение (M) ± средняя ошибка средней арифметической (m)		
	До операции	III группа (17-е сут. после операции)	
		контр.	опытн.
Лейкоциты, $\times 10^9$ на литр крови	6,57±0,37	4,48±2,48	7,33±1,46
Лимфоциты, $\times 10^9$ на литр крови	5,22±0,28	4,35±2,41	6,75±1,36
Моноциты, $\times 10^9$ на литр крови	0,22±0,03	0,08±0,04	0,15±0,07
Гранулоциты, $\times 10^9$ на литр крови	1,18±0,26	0,05±0,03	0,45±0,23
Лимфоциты, %	78,28±2,36	97,00±0,00	92,10±3,641
Моноциты, %	5,48±0,86	2,07±0,18	1,80±0,59
Гранулоциты, %	15,61±2,54	0,93±0,18	6,10±3,36

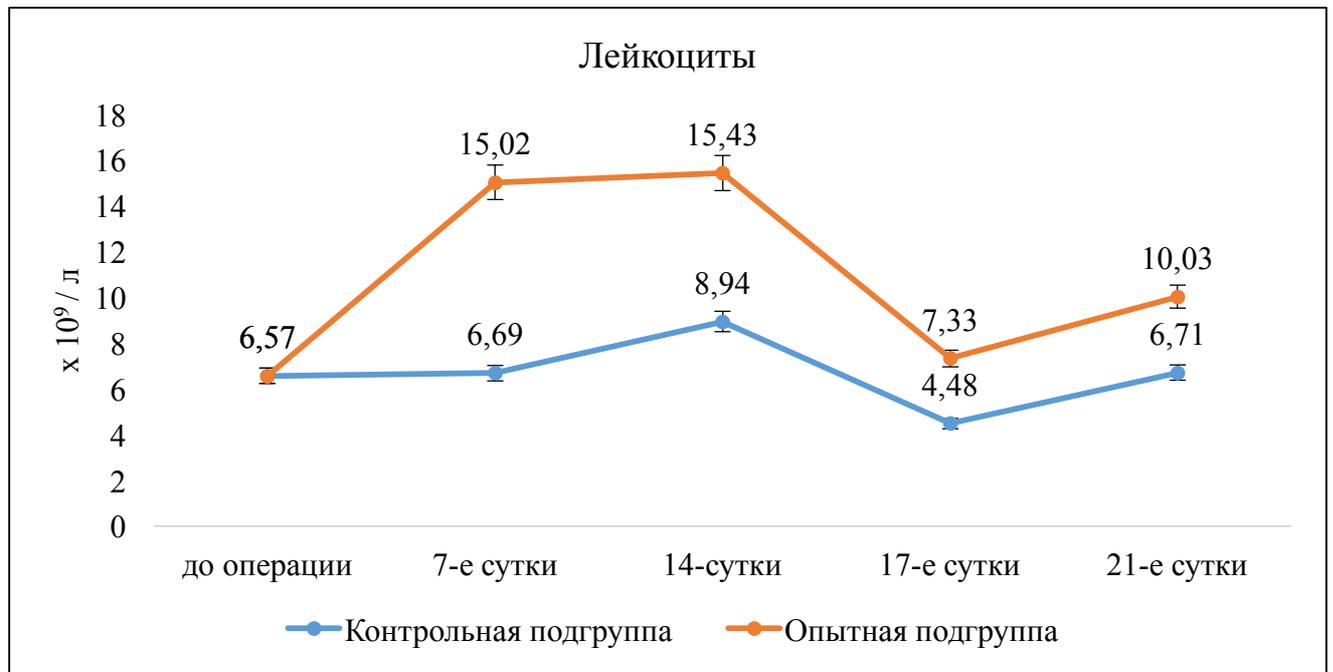


Рисунок 10 – Динамика изменений концентрации лейкоцитов в крови экспериментальных животных.

Таблица 6 – Показатели лейкоцитарной формулы экспериментальных животных на 21-е сутки после мукоклазии (IV группа)

Показатель	Среднее значение (M)±средняя ошибка средней арифметической (m)		
	До операции	IV группа (21-е сут. после операции)	
		КОНТ.	ОПЫТН.
Лейкоциты, $\times 10^9$ на литр крови	6,57±0,37	6,71±2,20	10,03±2,88
Лимфоциты, $\times 10^9$ на литр крови	5,22±0,28	6,48±2,10	9,57±2,81
Моноциты, $\times 10^9$ на литр крови	0,22±0,03	0,16±0,10	0,16±0,05
Гранулоциты, $\times 10^9$ на литр крови	1,18±0,26	0,07±0,02	0,29±0,18
Лимфоциты, %	78,28±2,36	96,67±0,41	95,33±1,57
Моноциты, %	5,48±0,86	2,10±0,80	1,88±0,74
Гранулоциты, %	15,61±2,54 <sup>1;2</sup>	1,37±0,25 <sup>2</sup>	2,95±1,75 <sup>1</sup>

Примечание: 1-p=0,005;2-p=0,044

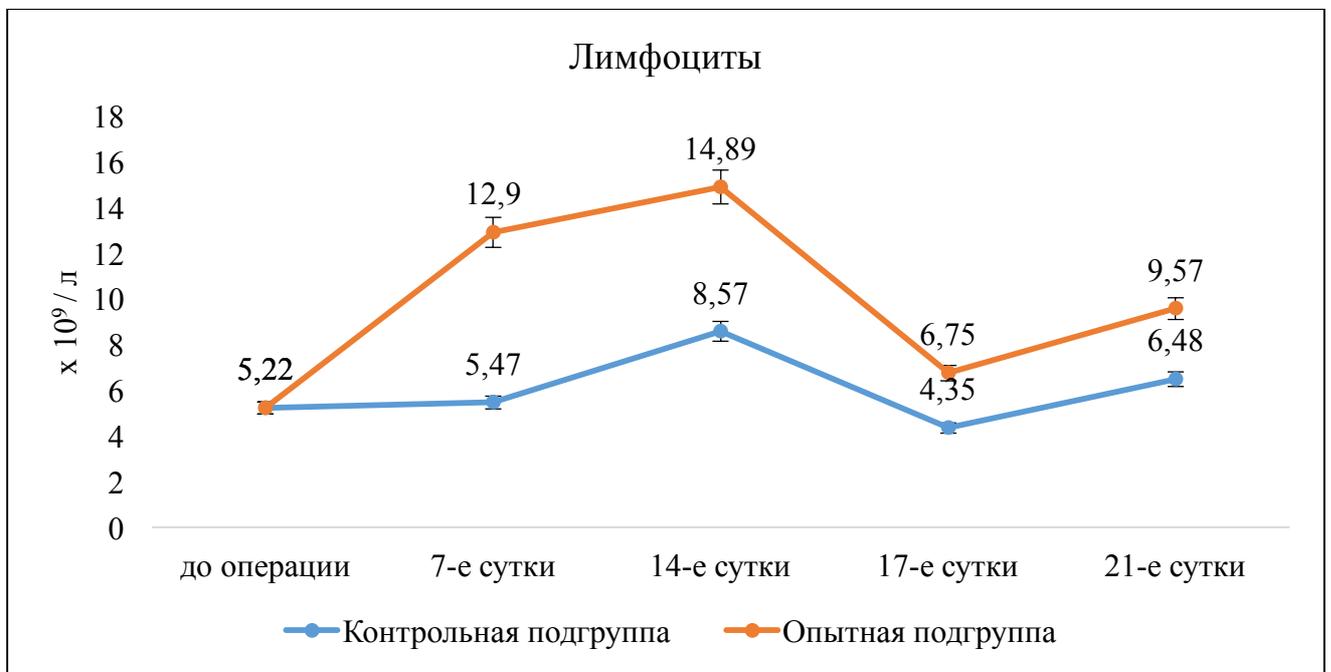


Рисунок 11 – Динамика изменений концентрации лимфоцитов в крови экспериментальных животных.

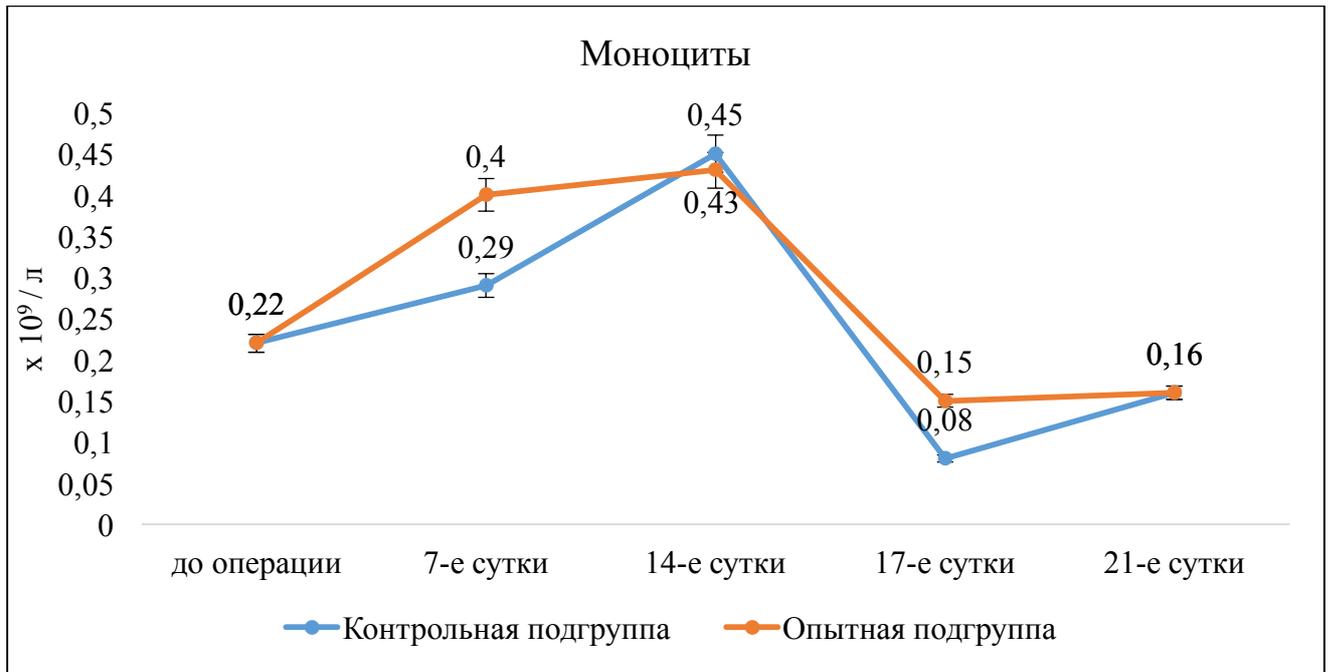


Рисунок 12 – Динамика изменений концентрации моноцитов в крови экспериментальных животных.

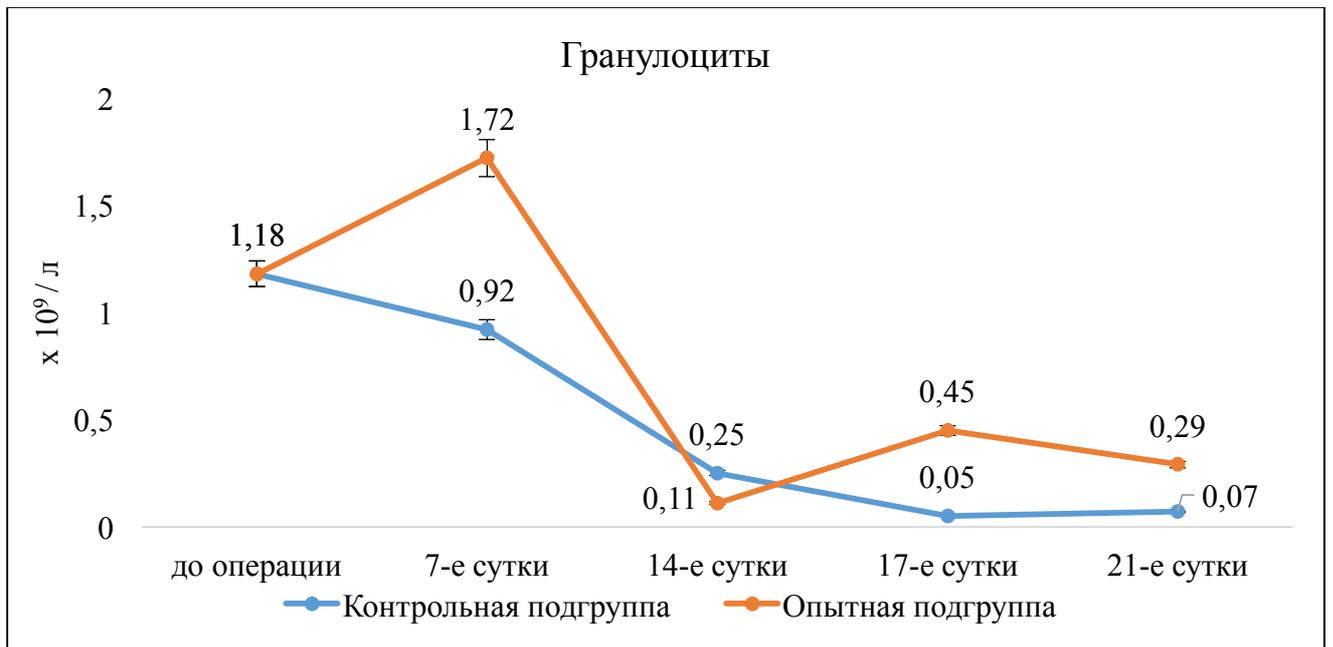


Рисунок 13 – Динамика изменений концентрации гранулоцитов в крови экспериментальных животных.

Таким образом, при использовании препарата Ронколейкин наблюдается почти двукратное увеличение числа лейкоцитов за счёт популяции лимфоцитов. Об этом свидетельствуют их аналогичные изменения, достигающие максимальных значений на 7-е и 14-е сутки после мукоклазии.

### **3.2. Влияние препарата Ронколейкин на иммунокомпетентные органы экспериментальных животных.**

Для оценки влияния препарата Ронколейкин на иммунную систему экспериментальных животных проведено морфометрическое исследование долек тимуса, являющегося центральным органом иммунной системы и специализирующегося на созревании и антиген-независимой дифференцировке Т-лимфоцитов, и коркового вещества лимфоузлов брюшной полости, представляющих периферические лимфоидные органы, в которых иммунокомпетентные Т- и В-лимфоциты проходят антиген-зависимую дифференцировку при возникновении очагов воспаления.

На 7-е сутки после мукоклазии на фоне применения препарата Ронколейкин толщина коркового вещества тимуса опытных животных увеличивалась в 1,53 раза ( $p=0,044$ ) по сравнению с контрольными животными (таблица 7, рисунок 14). Достоверных различий толщины мозгового вещества тимуса между опытной и контрольной подгруппами на этом сроке установлено не было (таблица 7, рисунок 15, 16).

На 14-е сутки толщина коркового вещества тимуса у опытной подгруппы продолжала увеличиваться и была достоверно (в 1,32 раза,  $p=0,024$ ) больше, чем на 7-е сутки. Толщина мозгового вещества у опытных животных, напротив, снижалась и была меньше чем на 7-е сутки ( $p=0,030$ ) (таблица 7, рисунок 15, 16).

На 17-е сутки толщина коркового вещества тимуса животных опытной подгруппы значительно не изменялась и была в 1,30 раза больше, чем у контрольной подгруппы ( $p=0,037$ ) и в 1,32 раза больше по сравнению со значениями на 7-е сутки ( $p=0,030$ ).

На 21-е сутки толщина коркового ( $p=0,0008$ ) и мозгового ( $p=0,002$ ) вещества тимуса животных, получавших после мукоклазии Ронколейкин, значительно превышала показатели контрольных животных. Однако этот морфометрический показатель по сравнению с показателями на 17-е сутки снижался как в опытной ( $p=0,030$ ), так и в контрольной ( $p=0,027$ ) подгруппах. Причём, в контрольной подгруппе мозговое вещество имело меньшие размеры и по сравнению с более ранними сроками на 7-е ( $p=0,036$ ) и 14-е ( $p=0,025$ ) сутки (таблица 7, рисунок 14, 15).

Таким образом, при использовании препарата Ронколейкин после термической мукоклазии желчного пузыря у экспериментальных животных наблюдается увеличение коркового вещества долек тимуса, свидетельствующее о стимуляции пролиферации и дифференцировки Т-лимфоцитов.

Таблица 7 – Толщина коркового и мозгового вещества тимуса экспериментальных животных в зависимости от сроков оперативного вмешательства и применения препарата Ронколейкин

Срок после операции		Среднее значение (M)±средняя ошибка средней арифметической (m), мкм	
		Корковый слой	Мозговой слой
I группа (7-е сут.)	Контрольная подгруппа	884,97±225,41 <sup>1</sup>	1434,97±320,57
	Опытная подгруппа	1350,96±155,8 <sup>1</sup>	1573,57±217,64
II группа (14-е сут.)	Контрольная подгруппа	1485,73±285,35	1510,57±485,35
	Опытная подгруппа	1781,21±86,62	1469,49±41,46
III группа (17-е сут.)	Контрольная подгруппа	1370,38±180,57 <sup>2</sup>	1027,45±79,49
	Опытная подгруппа	1787,01±65,99 <sup>2</sup>	1262,17±163,82
IV группа (21-е сут.)	Контрольная подгруппа	996,18±304,08 <sup>3</sup>	768,85±346,37 <sup>4</sup>
	Опытная подгруппа	1529,3±142,42 <sup>3</sup>	1365,73±107,9 <sup>4</sup>

Примечание: 1-  $p=0,044$ ; 2-  $p=0,037$ ; 3-  $p=0,0008$ ; 4-  $p=0,002$ .

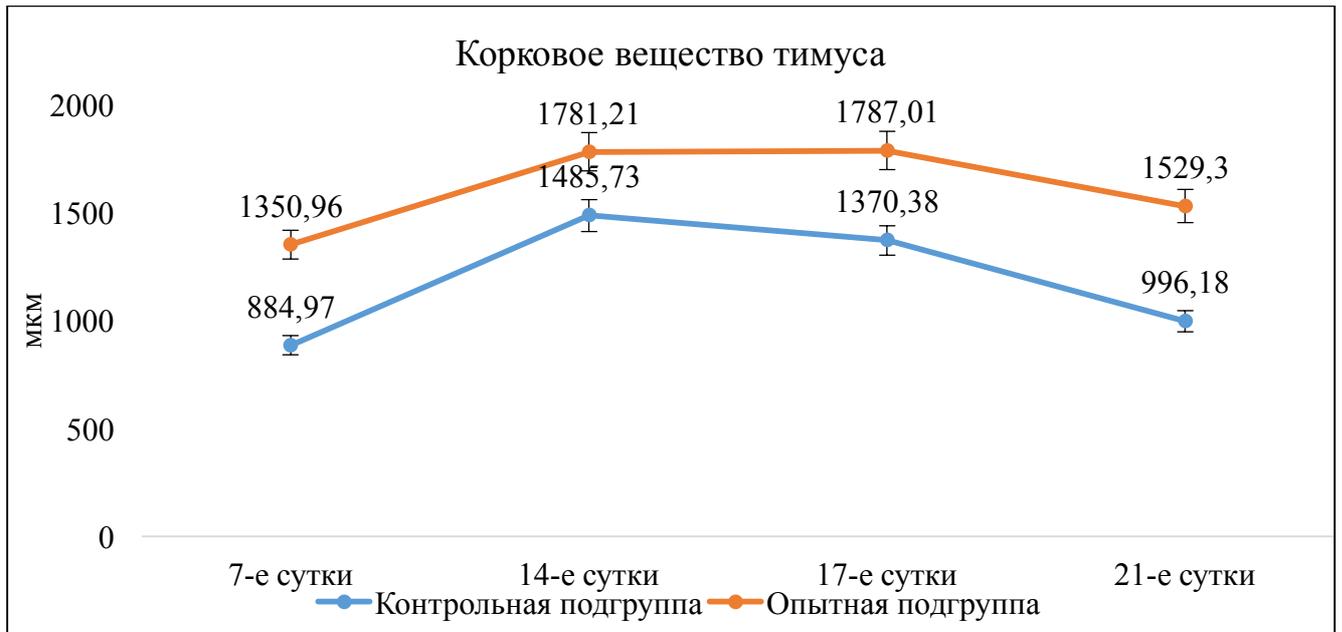


Рисунок 14 – Изменение толщины коркового вещества тимуса экспериментальных животных на разных сроках после термической мукоклазии желчного пузыря при применении препарата Ронколейкин.

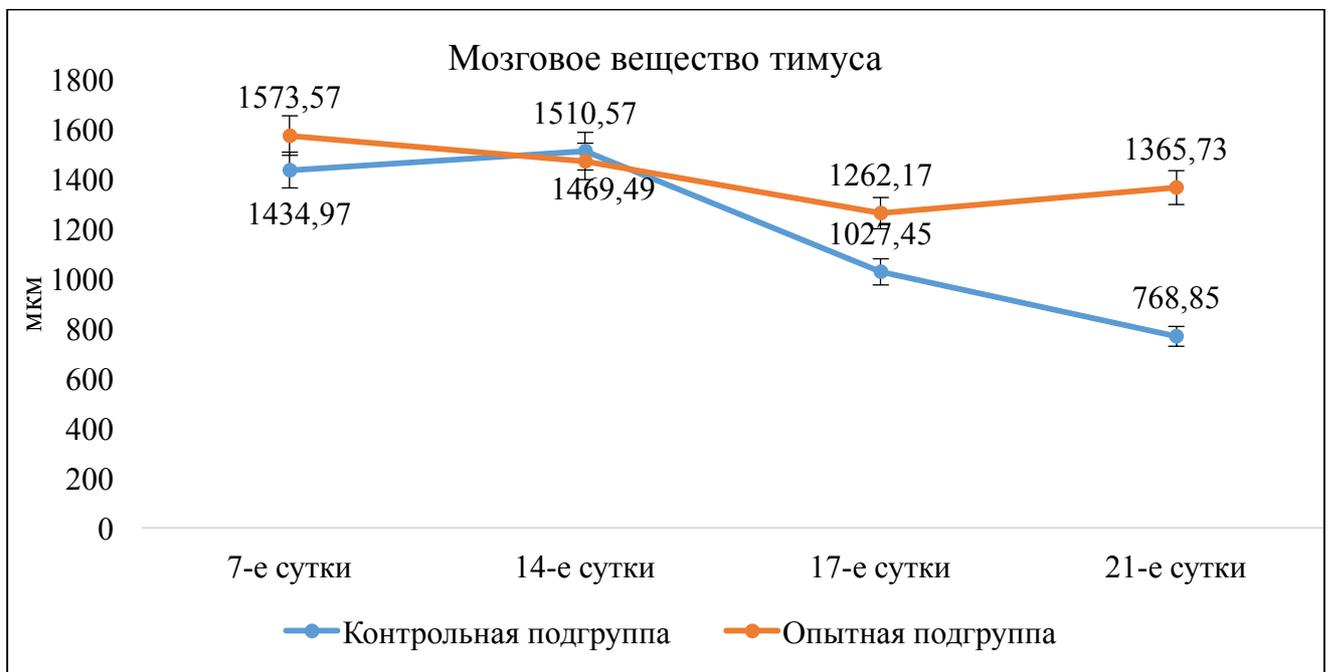


Рисунок 15 – Изменение толщины мозгового вещества тимуса экспериментальных животных на разных сроках после термической мукоклазии желчного пузыря при применении препарата Ронколейкин.

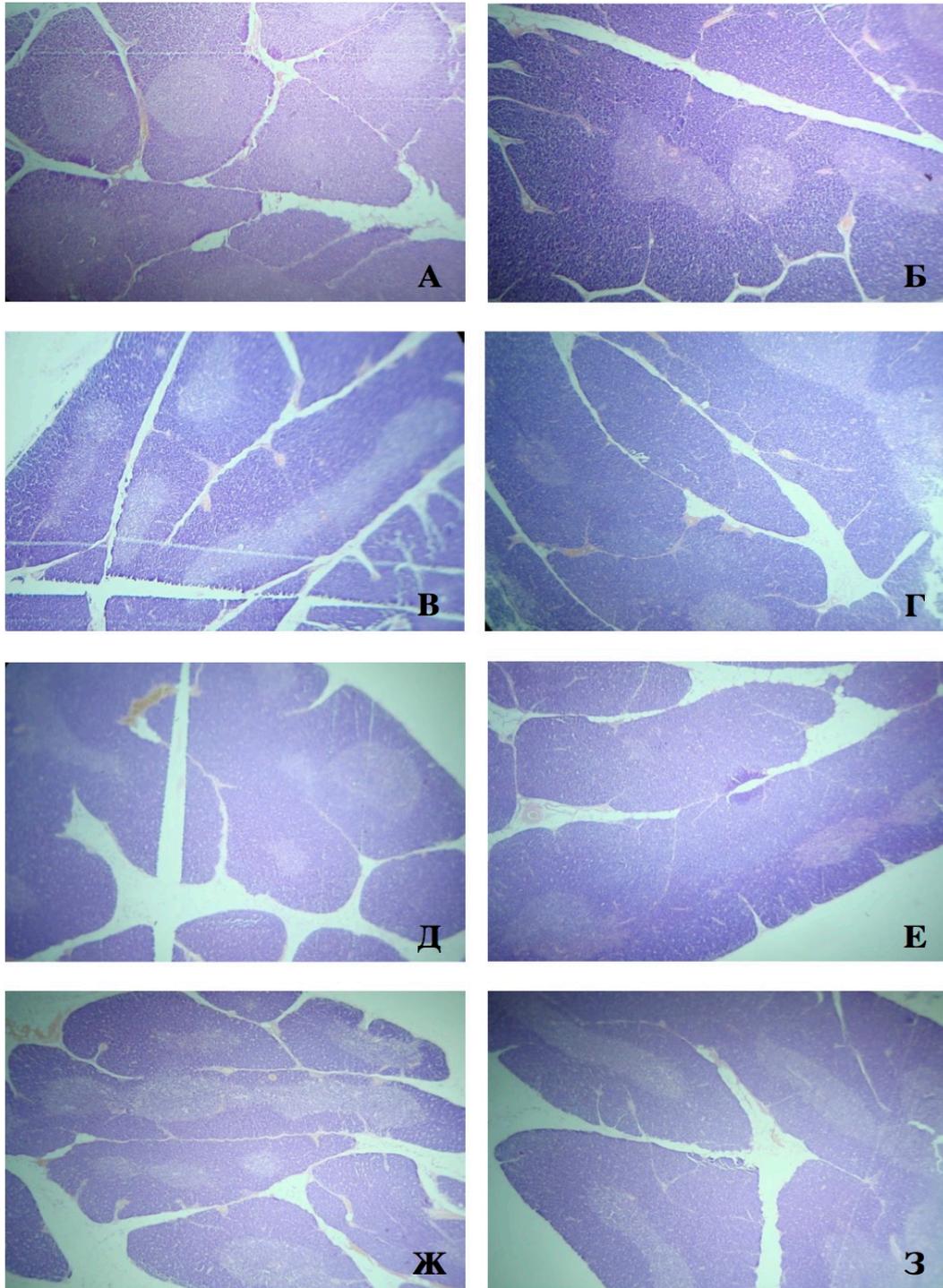


Рисунок 16 – Дольки тимуса у опытных и контрольных подгрупп животных А, Б – 7-е сутки. В, Г – 14-е сутки. Д, Е – 17-е сутки. Ж,З – 21-е сутки. А, В, Д, Ж – животные контрольной подгруппы. Б, Г, Е, З - животные опытной подгруппы, получавшие после мукоклазии Ронколейкин. У животных опытных подгрупп (Б,Г,Е,З) на всех сроках после операции отмечается большая толщина коркового слоя тимуса по сравнению с контрольными. Окр. Г+Э. Ув. х 40.

Толщина коркового вещества лимфатических узлов брюшной полости у животных опытной и контрольной подгрупп, выведенных из эксперимента на 7-е сутки, достоверно не отличалась.

На 14-е сутки этот показатель увеличивался ( $p=0,0065$  по сравнению со значениями на 7-е сутки) у животных, получавших Ронколейкин, и был в 2,40 раза больше, чем у контрольных животных ( $p=0,0040$ ).

На 17-е сутки толщина коркового вещества лимфатических узлов у животных опытной подгруппы снижалась и была меньше, чем на 7-е ( $p=0,036$ ) и 14-е ( $p=0,021$ ) сутки и меньше, чем в контрольной подгруппе ( $p=0,018$ ). В то же время, у контрольных животных наблюдалось увеличение этого показателя по сравнению со значениями на 7-е ( $p=0,038$ ) и 14-е ( $p=0,028$ ) сутки.

На 21-е сутки у животных, получавших Ронколейкин, отмечено уменьшение толщины корковой зоны лимфоузлов по сравнению с 14-ми ( $p=0,0048$ ) и 17-ми сутками ( $p=0,015$ ). Однако этот показатель у них выше, чем в контрольной подгруппе ( $p=0,042$ ). Следует отметить что в контрольной подгруппе корковое вещество на 21-е сутки уменьшается по сравнению с 17-ми сутками ( $p=0,12$ ) (таблица 8, рисунок 17, 18).

Таким образом, при применении препарата Ронколейкин после мукоклазии желчного пузыря у экспериментальных животных происходит стимуляция пролиферации и антиген-зависимой дифференцировки иммунокомпетентных лимфоцитов брюшных лимфоузлов в ответ на воспалительный очаг в брюшной полости. Наибольшая активность этого процесса наблюдается к 14-м суткам после мукоклазии, что как минимум на 7 дней позже активизации пролиферации и дифференцировки Т-лимфоцитов в тимусе. Следовательно, расширение корковой зоны лимфатических узлов можно рассматривать как последствие ранее описанных изменений в тимусе. При применении Ронколейкина сначала активизируется пролиферация и дифференцировка Т-лимфоцитов в тимусе, что занимает приблизительно 7 дней, а затем в течение следующей недели расширенный пул лимфоцитов стимулируется под воздействием воспалительного процесса уже в

брюшных лимфоузлах. Причём, на фоне применения Ронколейкина это происходит на 3 дня раньше, чем в контрольной подгруппе животных.

Таблица 8 – Толщина коркового вещества лимфатических узлов брюшной полости

Срок после операции		Корковое вещество лимфатических узлов брюшной полости, мкм
		Корковое вещество
I группа (7-е сут.)	Контрольная подгруппа	2441,34±325,99
	Опытная подгруппа	2931,02±542,8
II группа (14-е сут.)	Контрольная подгруппа	2362,37±314,33 <sup>1</sup>
	Опытная подгруппа	5671,78±730,51 <sup>1</sup>
III группа (17-е сут.)	Контрольная подгруппа	3907,26±267,07 <sup>2</sup>
	Опытная подгруппа	3523,31±330,38 <sup>2</sup>
IV группа (21-е сут.)	Контрольная подгруппа	2222,1±238,47 <sup>3</sup>
	Опытная подгруппа	3063,12±346,88 <sup>3</sup>

Примечание: 1- p=0,0040; 3- p=0,018; 3- p=0,042.

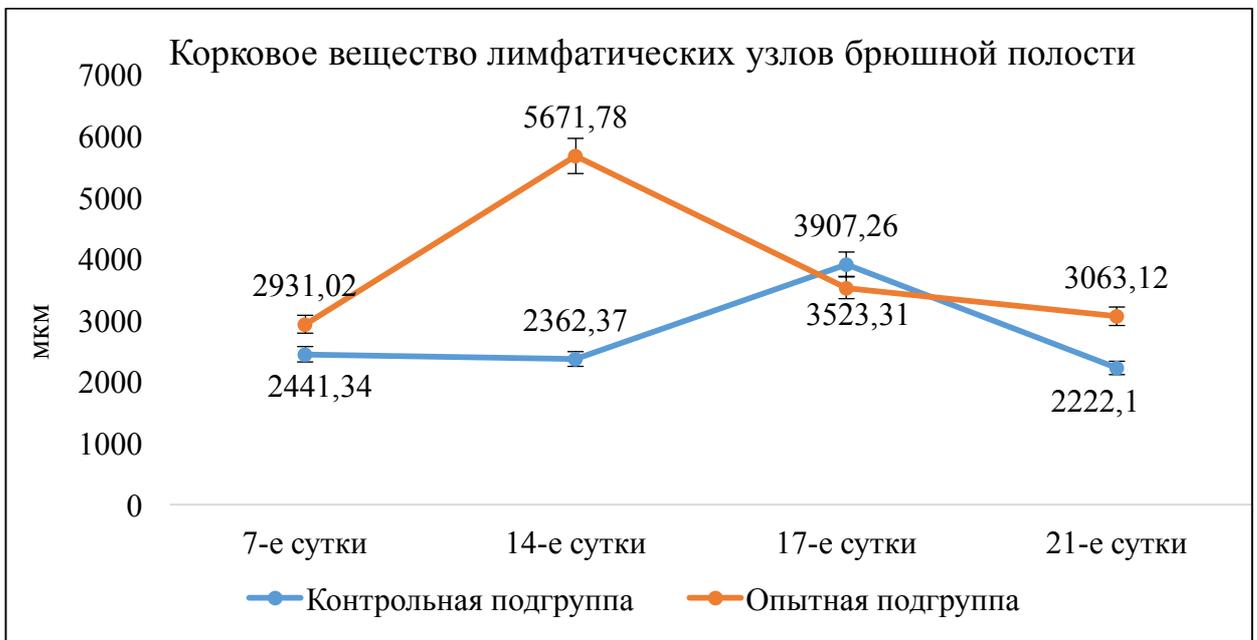


Рисунок 17 – Толщина коркового вещества лимфатических узлов брюшной полости экспериментальных животных на разных сроках после термической мукоклазии желчного пузыря.

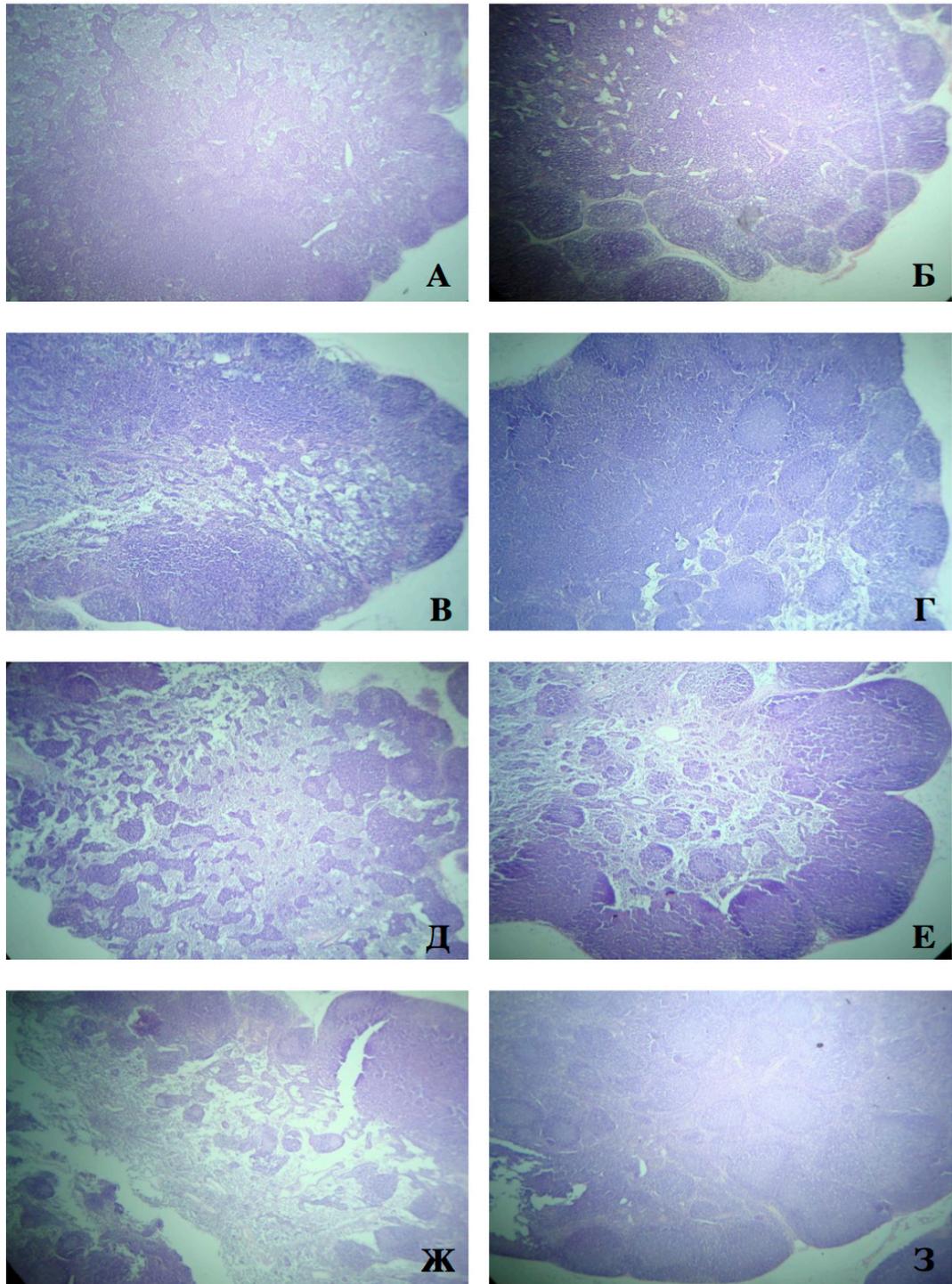


Рисунок 18 – Срезы лимфатических узлов брюшной полости опытных и контрольных подгрупп животных. А, Б – 7-е сутки. В, Г – 14-е сутки. Д, Е – 17-е сутки. Ж, З – 21-е сутки. А, В, Д, Ж – животные контрольной подгруппы. Б, Г, Е, З – животные опытной подгруппы, получавшие после мукоклазии Ронколейкин. У животных опытных подгрупп (Б, Г, Е, З) на фоне применения Ронколейкина отмечается утолщение коркового вещества Окр. Г+Э. Ув. х 40.

Количество лимфатических узелков в корковом веществе лимфатических узлов, свидетельствующих об активизации В-лимфоцитов, в опытных подгруппах было достоверно ( $p \leq 0,025$ ) больше по сравнению с контрольными (таблица 9, рисунок 19).

Таблица 9 – Количество лимфатических узелков в лимфатических узлах брюшной полости

Срок после операции		Количество лимфатических узелков, (M) ± (m)
I группа (7-е сут.)	Контрольная подгруппа	19,67±5,67 <sup>1</sup>
	Опытная подгруппа	34,25±4,09 <sup>1</sup>
II группа (14-е сут.)	Контрольная подгруппа	21,00±6,04 <sup>2</sup>
	Опытная подгруппа	36,00±10,02 <sup>2</sup>
III группа (17-е сут.)	Контрольная подгруппа	25,33±1,08 <sup>3</sup>
	Опытная подгруппа	36,00±4,03 <sup>3</sup>
IV группа (21-е сут.)	Контрольная подгруппа	24,00±3,94 <sup>4</sup>
	Опытная подгруппа	38,00±2,11 <sup>4</sup>

Примечание: 1- $p=0,025$ ; 2- $p=0,033$ ; 3- $p=0,025$ ; 4- $p=0,004$ .

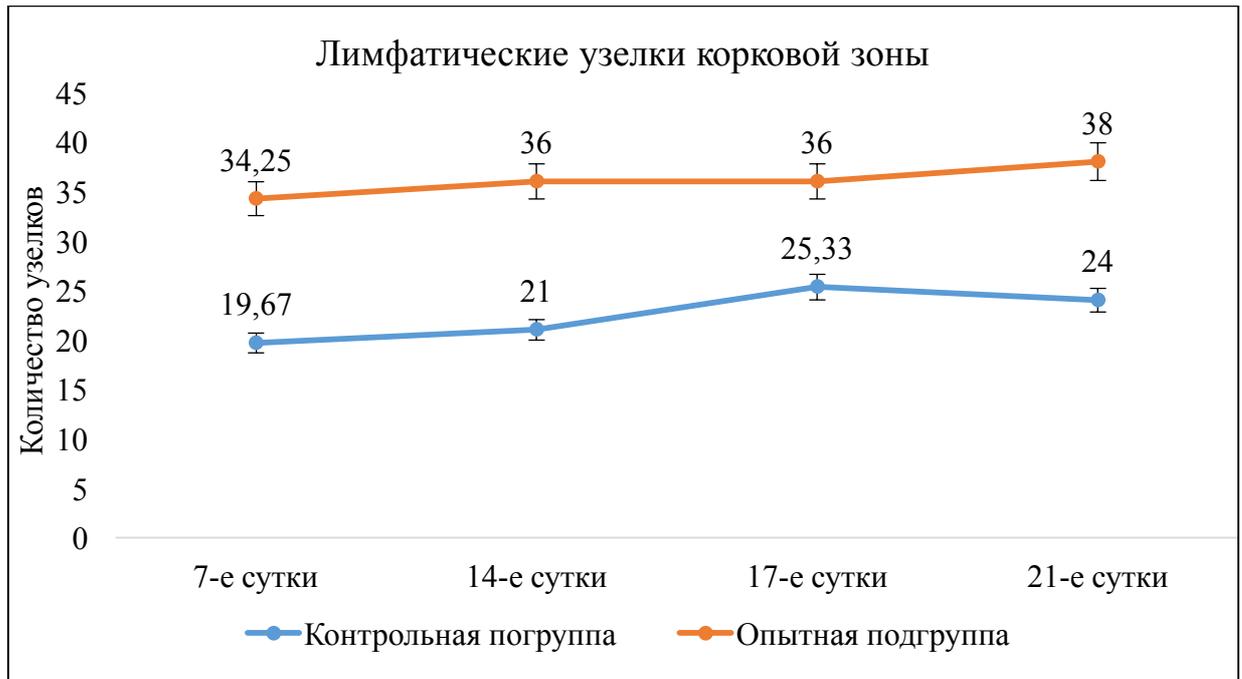


Рисунок 19 – Количество лимфатических узелков в корковом веществе лимфатических узлов брюшной полости на разных сроках после мукоклазии желчного пузыря при применении препарата Ронколейкин.

### 3.3. Влияние препарата Ронколейкин на размеры гепатоцитов и их ядер.

В основном закономерных достоверных изменений размеров гепатоцитов и их ядер из фрагментов печени, отдаленных от желчного пузыря, между опытными и контрольными животными на разных сроках эксперимента установлено не было. Исключение составляют данные о размере (площади сечения) гепатоцитов опытной подгруппы, получавшей Ронколейкин. На 14-е сутки этот параметр был достоверно (0,041) меньше, чем на 17-е сутки, и достоверно (0,019) больше, чем у контрольных животных, а на 17-е сутки достоверно (0,005) больше, чем 21-е сутки (таблица 10, рисунок 20).

Размеры гепатоцитов и их ядер прилежащих к желчному пузырю участков печени значительно не отличаются от таковых гепатоцитов отдаленных фрагментов печени. На 7-е сутки в опытной подгруппе размеры гепатоцитов достоверно ( $p=0,031$ ) меньше, чем на 17-е сутки и достоверно больше чем на 21-е сутки ( $p=0,001$ ) (таблица 11, рисунок 21).

Таким образом, в настоящем исследовании значительного влияния препарата Ронколейкин на метаболическую активность гепатоцитов не установлено. Следует отметить некоторую активизацию гепатоцитов на 17-е сутки после мукоклазии независимо от их удалённости от желчного пузыря и использования иммуностимулятора Ронколейкин.

Таблица 10 – Размеры гепатоцитов и их ядер отдаленного от желчного пузыря участка печени экспериментальных животных

Срок после операции		Среднее значение (M)±средняя ошибка средней арифметической (m), мкм <sup>2</sup>	
		Площадь гепатоцита	Площадь ядра гепатоцита
I группа (7-е сут.)	Контрольная подгруппа	211,34±41,94	29,89±2,16
	Опытная подгруппа	286,01±38,48	31,42±2,85
II группа (14-е сут.)	Контрольная подгруппа	232,22±36,41 <sup>1</sup>	32,13±1,11
	Опытная подгруппа	274,90±14,43 <sup>1</sup>	35,37±1,08
III группа (17-е сут.)	Контрольная подгруппа	311,70±63,69	36,52±3,87
	Опытная подгруппа	341,32±33,85	36,40±1,87
IV группа (21-е сут.)	Контрольная подгруппа	233,73±24,94	39,95±2,32
	Опытная подгруппа	221,23±18,60	35,25±2,16

Примечание: 1-p=0,019.

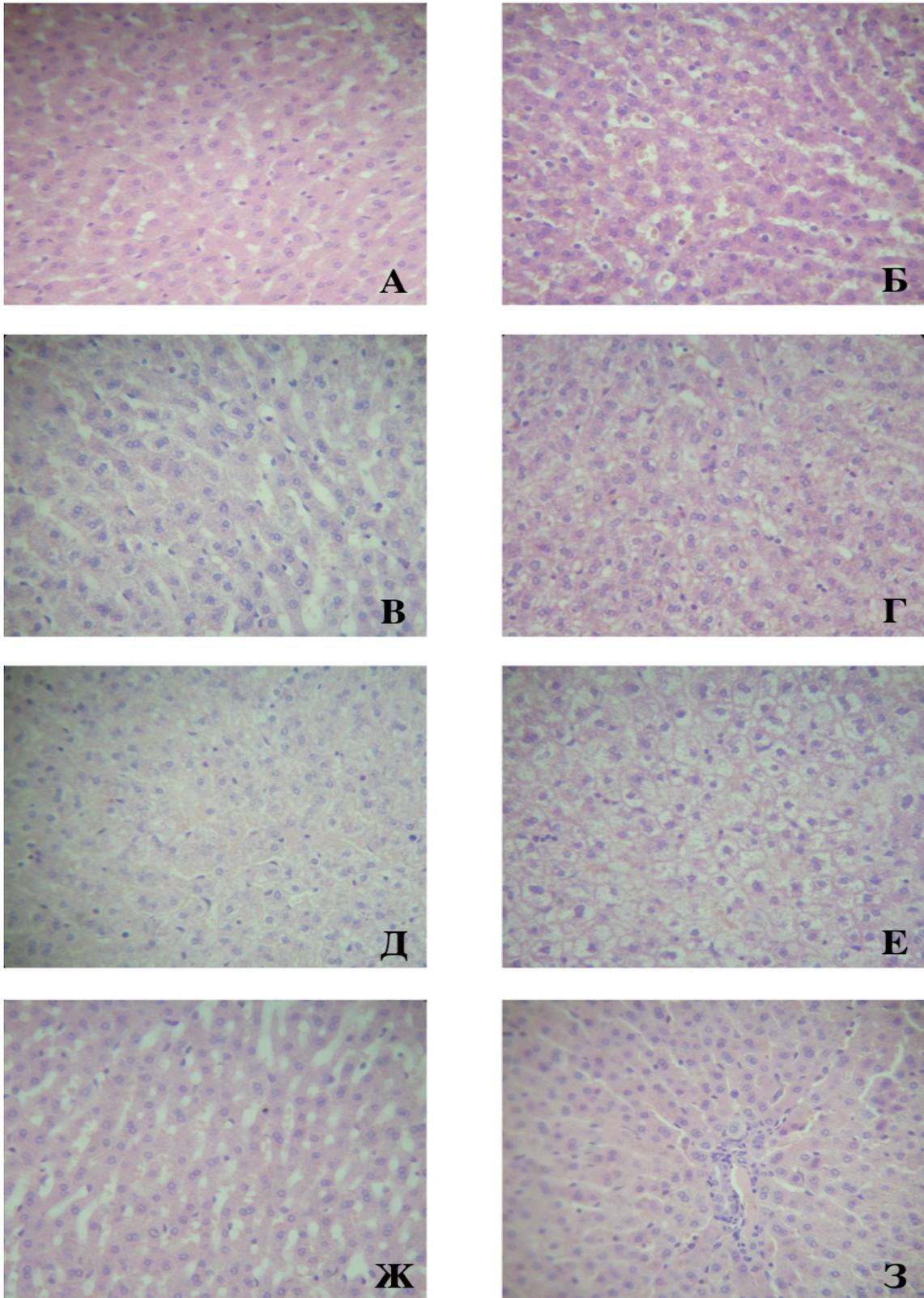


Рисунок 20 – Срезы отдаленного от желчного пузыря участка печени опытных и контрольных подгрупп животных. А, Б – 7-е сутки. В, Г – 14-е сутки. Д, Е – 17-е сутки. Ж,З – 21-е сутки. А, В, Д, Ж – животные контрольной подгруппы. Б, Г, Е, З – животные опытной подгруппы, получавшие после мукоклазии Ронколейкин. Окр. Г+Э. Ув. х 400.

Таблица 11 – Размеры гепатоцитов и их ядер прилежащего к желчному пузырю участка печени

Срок после операции		Среднее значение (M) ± средняя ошибка средней арифметической (m), мкм <sup>2</sup>	
		Площадь гепатоцита	Площадь ядра гепатоцита
I группа (7-е сут.)	Контрольная подгруппа	258,57±79,83	33,13±1,48
	Опытная подгруппа	259,62±18,62	34,34±3,42
II группа (14-е сут.)	Контрольная подгруппа	263,71±28,41	31,10±3,19
	Опытная подгруппа	268,74±32,15	35,31±1,41
III группа (17-е сут.)	Контрольная подгруппа	344,53±64,75	35,56±1,36
	Опытная подгруппа	318,64±20,72	29,57±10,47
IV группа (21-е сут.)	Контрольная подгруппа	236,11±23,90	38,00±3,22
	Опытная подгруппа	218,28±12,80	35,05±1,65

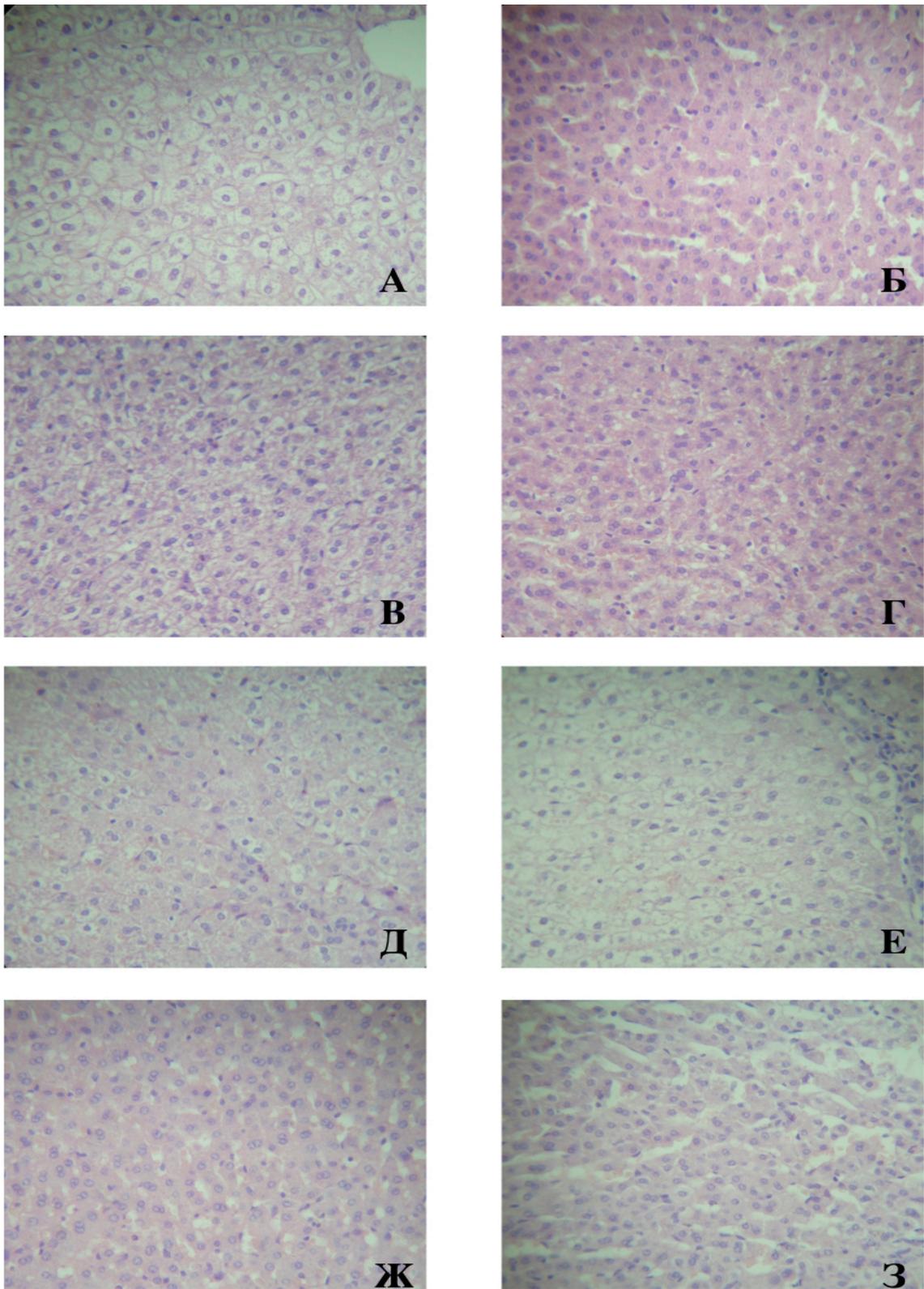


Рисунок 21 – Срезы печени, прилежащей к желчному пузырю, опытных и контрольных подгрупп животных. А, Б – 7-е сутки. В, Г – 14-е сутки. Д, Е – 17-е сутки. Ж,З – 21-е сутки. А, В, Д, Ж – животные контрольной подгруппы. Б, Г, Е, З - животные опытной подгруппы, получавшие после мукоклазии Ронколейкин. Окр. Г+Э. Ув. х 400.

### 3.4. Гистологические изменения в стенке желчного пузыря экспериментальных животных

Толщина стенки желчного пузыря у животных опытной подгруппы, получавших Ронколейкин, на всех сроках эксперимента была достоверно больше ( $p=0,041$ , 7-е сутки;  $p=0,014$ , 14-е сутки;  $p=0,05$ , 21-е сутки), чем у контрольных животных (таблица 12, рисунок 22, 23). Количество и плотность расположения коллагеновых волокон в соединительной ткани желчного пузыря при применении Ронколейкина также значительно превышали таковые показатели контрольных животных на всех экспериментальных сроках (рисунок 22, 23).

Таблица 12 – Толщина стенки желчного пузыря экспериментальных животных

Срок после операции		Толщина стенки желчного пузыря, (М) ± (m), мкм
I группа (7-е сут.)	Контрольная подгруппа	2892,04±719,49 <sup>1</sup>
	Основная подгруппа	6126,62±1559,68 <sup>1</sup>
II группа (14-е сут.)	Контрольная подгруппа	2899,55±1048,85 <sup>2</sup>
	Основная подгруппа	7273,69±1220,25 <sup>2</sup>
III группа (17-е сут.)	Контрольная подгруппа	5118,15±2580,51
	Основная подгруппа	8108,28±901,46
IV группа (21-е сут.)	Контрольная подгруппа	3784,52±348,73 <sup>3</sup>
	Основная подгруппа	6132,29±1035,99 <sup>3</sup>

Примечание: 1- $p=0,041$ ; 2-  $p=0,014$ ; 3-  $p=0,05$

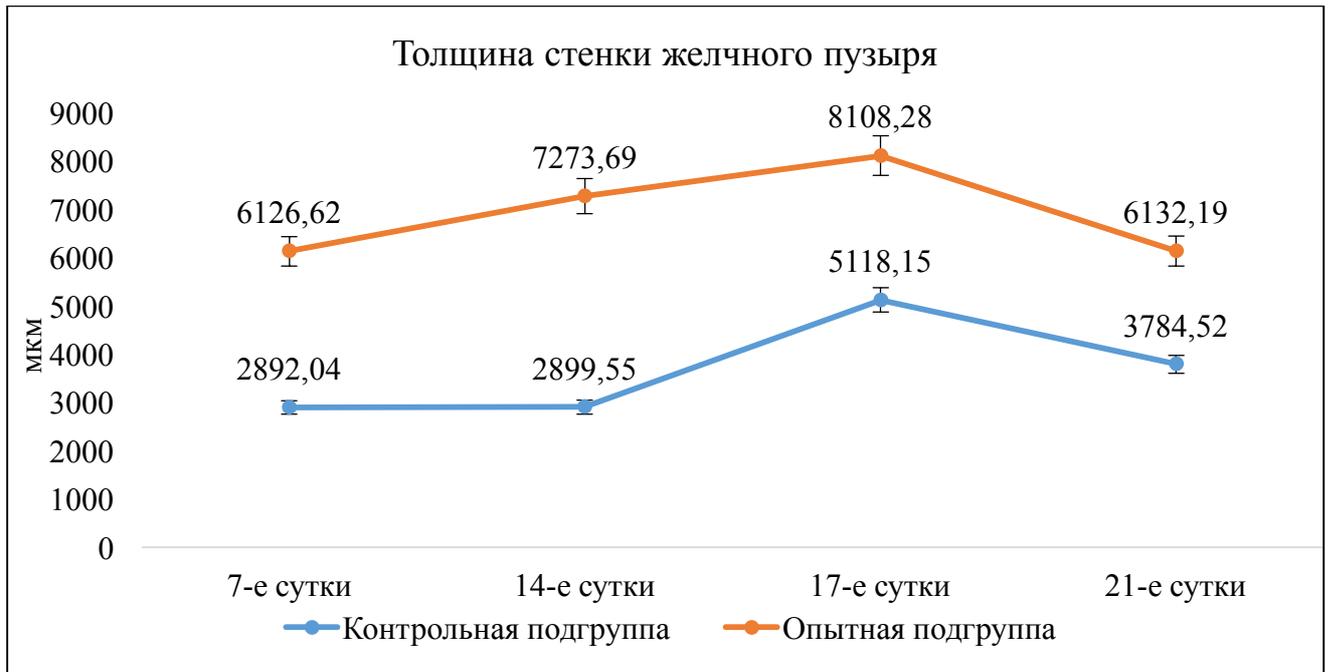


Рисунок 22 – Толщина стенки желчного пузыря экспериментальных животных после термической мукоклазии желчного пузыря при применении препарата Ронколейкин.

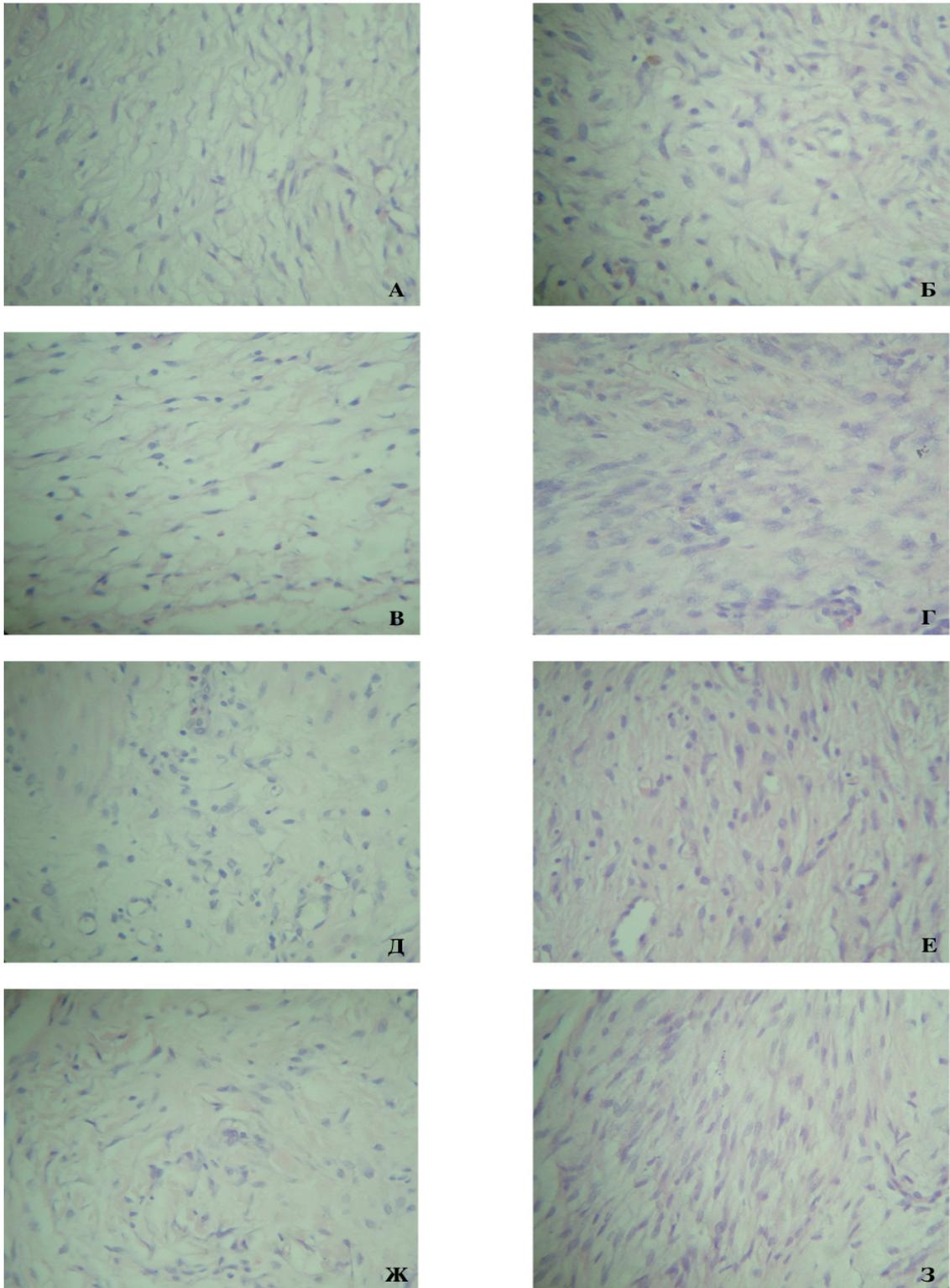


Рисунок 23 – Соединительная ткань желчного пузыря экспериментальных животных. А, Б – 7-е сутки. В, Г – 14-е сутки. Д, Е – 17-е сутки. Ж,З – 21-е сутки. А, В, Д, Ж – животные контрольной подгруппы. Б, Г, Е, З - животные опытной подгруппы, получавшие после мукоклазии Ронколейкин. При применении Ронколейкина отмечается значительное увеличение количества и плотности расположения фибробластов. Окр. Г + Э. Ув. х 400.

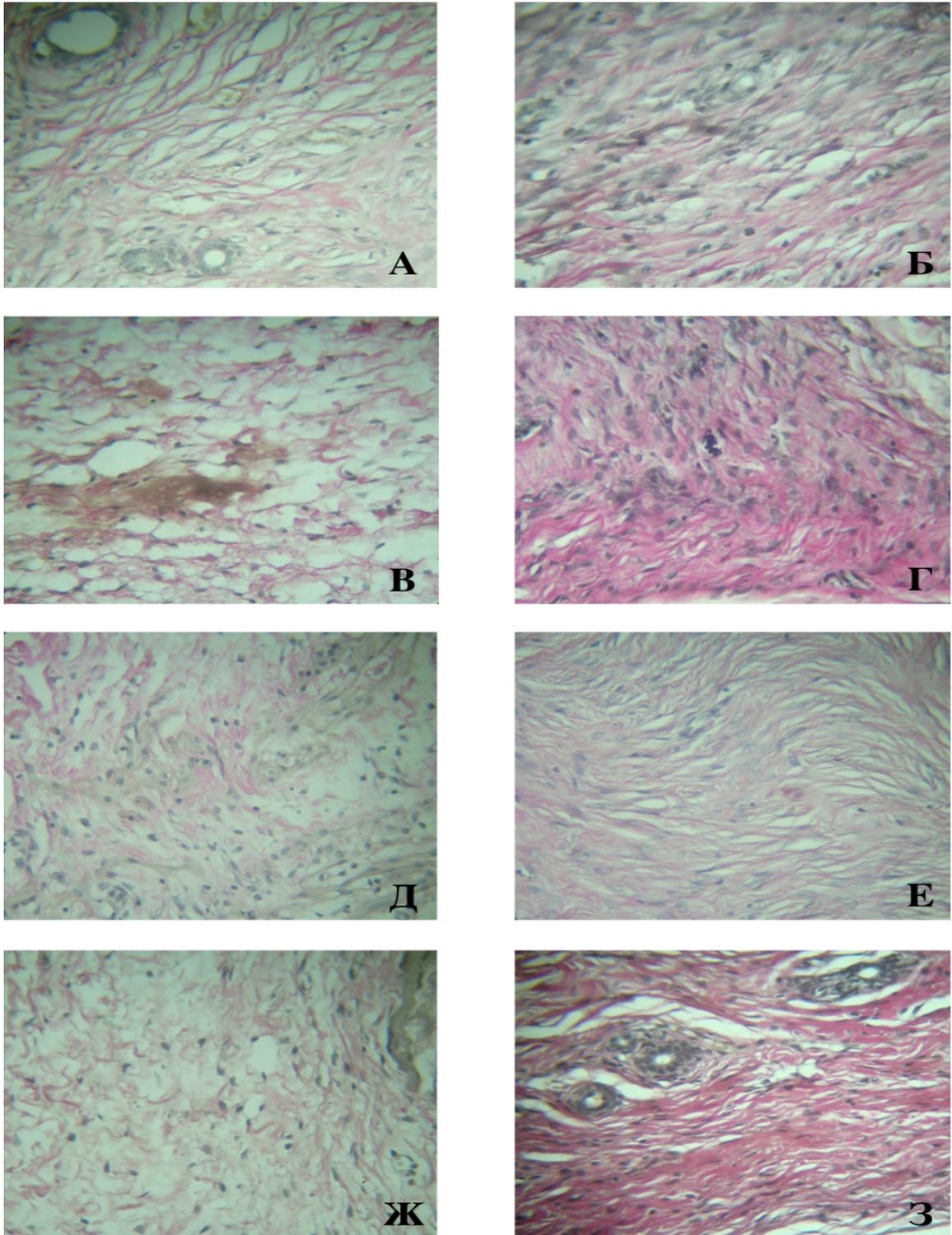


Рисунок 24 – Соединительная ткань желчного пузыря экспериментальных животных. А, Б – 7-е сутки. В, Г – 14-е сутки. Д, Е – 17-е сутки. Ж,З – 21-е сутки. А, В, Д, Ж – животные контрольной подгруппы. Б, Г, Е, З - животные опытной подгруппы, получавшие после мукоклазии Ронколейкин. При применении Ронколейкина отмечается значительное увеличение количества и плотности расположения коллагеновых волокон. Окр. по Ван-Гизон. Ув. х 400.

На 7-е сутки количество фибробластов в стенке желчного пузыря у животных опытной и контрольной подгрупп практически не отличалось. Однако количество макрофагов (в 2,54 раза,  $p=0,042$ ) и лимфоцитов ( $p=0,034$ ) у животных, получавших Ронколейкин, было достоверно больше, чем в контрольной подгруппе.

На 14-е сутки концентрация фибробластов ( $p=0,01$ ), макрофагов ( $p=0,007$ ) и лимфоцитов ( $p=0,013$ ) на единицу площади была выше, чем соответствующие показатели контрольной подгруппы (рисунок 23).

На 17-е сутки в соединительной ткани желчного пузыря опытной подгруппы было больше фибробластов ( $p=0,032$ ) и лимфоцитов ( $p=0,034$ ) по сравнению с контрольной подгруппой.

На 21-е сутки после мукоклазии желчного пузыря количество фибробластов ( $p=0,0005$ ), макрофагов ( $p=0,007$ ) и лимфоцитов ( $p=0,002$ ) у животных опытной подгруппы значительно превышало указанные показатели животных контрольной подгруппы (таблица 13, рисунок 23, 24).

В контрольной группе значимое увеличение количества фибробластов наблюдалось к 21 суткам ( $p = 0,04$  по сравнению с животными на 14-е сутки) (рисунок 23). У животных опытной подгруппы, получавших Ронколейкин, происходило постепенное увеличение количества фибробластов, достигавшее максимума на 21-сутки. Так, по сравнению с животными, выведенными на 7-е сутки, фибробластов было достоверно больше на 14-е ( $p=0,024$ ), 17-е ( $p=0,026$ ) и 21-е сутки ( $p=0,000002$ ).

Содержание макрофагов в стенке желчного пузыря у контрольных животных в целом имело тенденцию к повышению. Этот параметр на 21-сутки у них был выше, чем на 7-е ( $p=0,021$ ) и на 14-е ( $p=0,047$ ). В опытной подгруппе количество макрофагов резко увеличивалось на 21-е сутки, когда это значение было достоверно выше, чем 14-е ( $p=0,05$ ) и 17-е ( $0,044$ ) сутки после операции (рисунок 27).

Количество лимфоцитов в контрольной группе имело чёткую тенденцию к снижению. На 7-е сутки этот показатель был самым высоким и превышал значения, полученные на 14-е сутки ( $p=0,003$ ), на 17-е сутки ( $p=0,013$ ) и на 21-е сутки

( $p=0,005$ ). В опытной подгруппе наблюдалась обратная зависимость. Концентрация лимфоцитов увеличивалась на 21-е сутки после мукоклазии и превышала значения, полученные на 7-е ( $p = 0,003$ ) и 17-е ( $p = 0,017$ ) сутки (рисунок 27).

Количество и плотность расположения коллагеновых волокон в опытных подгруппах было достоверно больше чем в контрольных на всех сроках эксперимента.

Интересно, что количество всех изученных клеток у животных, получавших Ронколейкин, резко повышалось к 21 суткам. У животных опытной подгруппы количество фибробластов начинало увеличиваться раньше и на 14-17-е сутки соответствовало значениям контрольной подгруппы на 21-е сутки. В совокупности данные проведенного гистологического исследования свидетельствуют о стимулирующем влиянии Ронколейкина на развитие соединительной ткани. При этом необходимо отметить, что процесс облитерации полости желчного пузыря в опытной подгруппе наблюдения происходит на 17-е сутки после проведения термической мукоклазии, в то время как в контрольной подгруппе в этот же срок выявляется остаточная полость в желчном пузыре. Облитерация полости желчного пузыря в контрольной подгруппе наблюдается к 21-м суткам после проведения мукоклазии. Процесс облитерации полости желчного пузыря на фоне применения Ронколейкина происходит в 1,24 раза быстрее, чем без применения иммуностимулятора.

Таблица 13 – Клеточный состав стенки желчного пузыря экспериментальных животных

Сутки после операции		Клеточный состав, количество клеток на 4,5 мм <sup>2</sup>			
		Фибро - бласты	Лимфо - циты	Макро - фаги	Эозино - филы
7-е сутки (1 группа)	Контр. подгруппа	11,07±1,36	2,29±0,41 <sup>1</sup>	1,40±0,32 <sup>2</sup>	1,0±0,0
	Опытн. подгруппа	14,45±0,97	3,53±0,34 <sup>1</sup>	3,55±0,40 <sup>2</sup>	1,0±0,0
14-е сутки (2 группа)	Контр. подгруппа	8,47±0,85 <sup>3</sup>	1,46±0,15 <sup>4</sup>	1,50±0,24 <sup>5</sup>	1,0±0,0
	Опытн. подгруппа	15,85±1,02 <sup>3</sup>	2,85±0,28 <sup>4</sup>	3,65±0,34 <sup>5</sup>	1,30±0,16
17-е сутки (3 группа)	Контр. подгруппа	9,73±1,39 <sup>6</sup>	1,90±0,37 <sup>7</sup>	2,58±0,61	1,25±0,29
	Опытн. подгруппа	17,30±1,29 <sup>6</sup>	2,90±0,35 <sup>7</sup>	3,35±0,44	1,00±0,0
21-е сутки (4 группа)	Контр. подгруппа	16,00±1,23 <sup>8</sup>	1,79±0,25 <sup>9</sup>	2,15±0,23 <sup>10</sup>	1,00±0,0
	Опытн. подгруппа	27,40±1,35 <sup>8</sup>	4,55±0,36 <sup>9</sup>	4,85±0,45 <sup>10</sup>	1,14±0,15

Примечание: 1- p=0,034; 2- p=0,042; 3- p=0,01; 4- p=0,013; 5- p=0,007; 6- p=0,032; 7- p=0,034; 8- p=0,0005; 9- p=0,002; 10- p=0,007

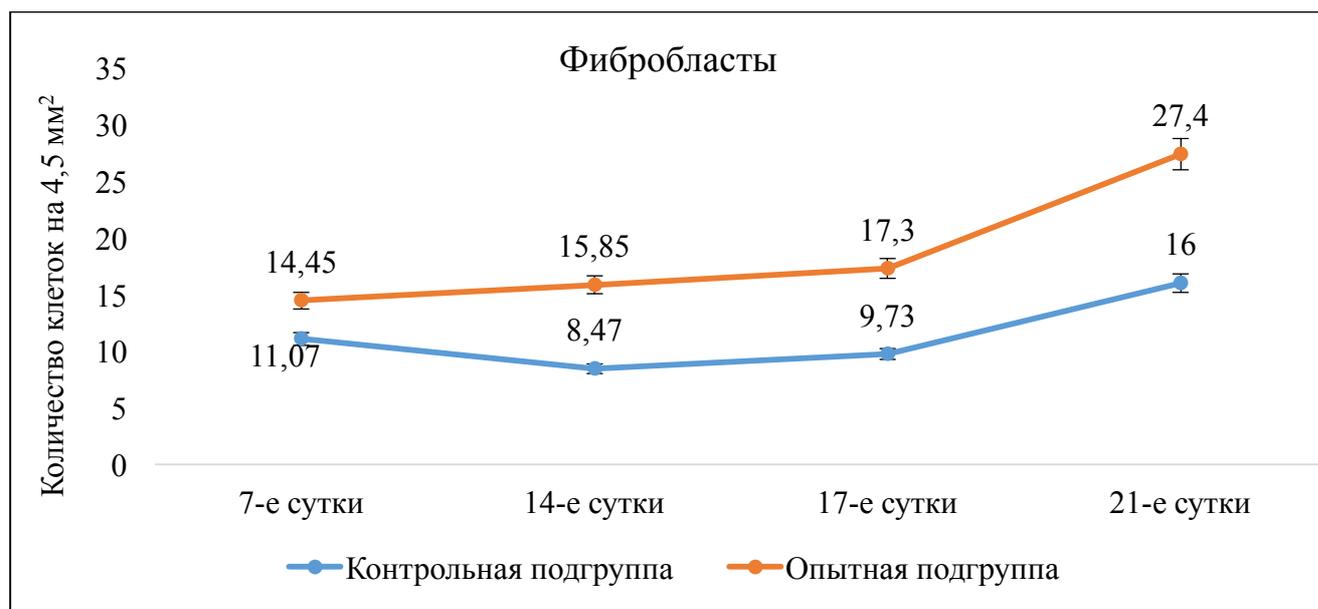


Рисунок 25 – Фибробласты в стенке желчного пузыря экспериментальных животных.

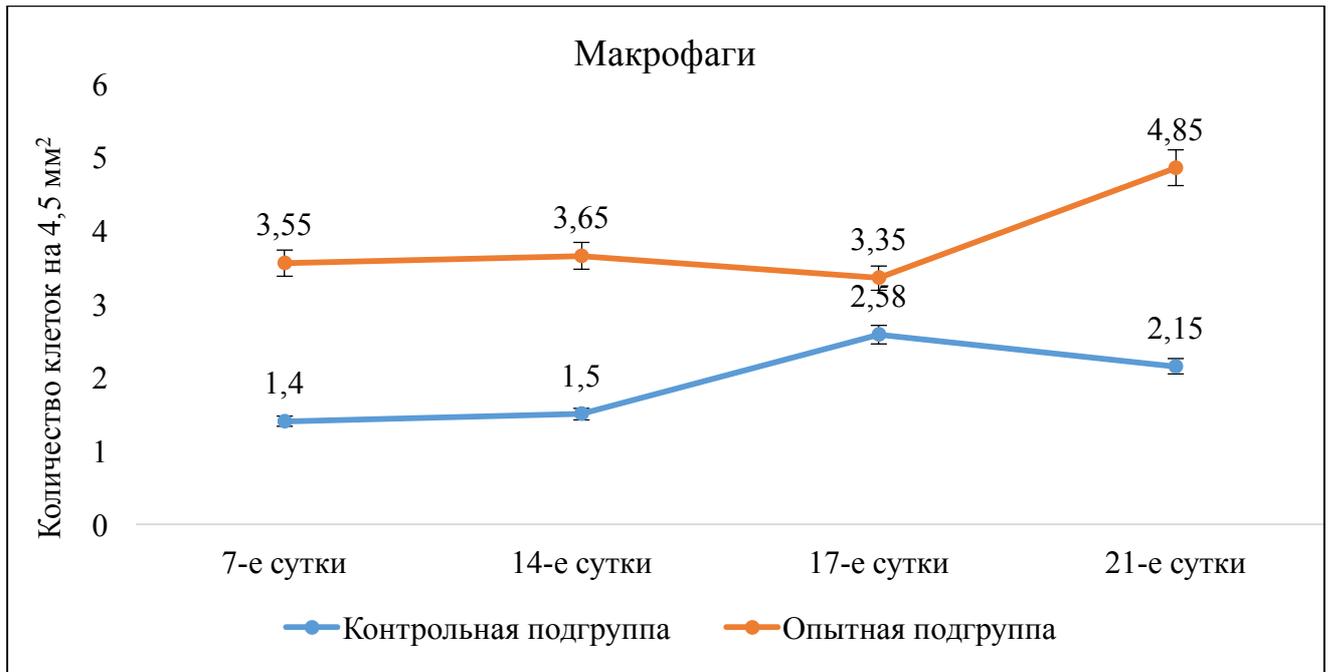


Рисунок 26 – Макрофаги в стенке желчного пузыря экспериментальных животных.

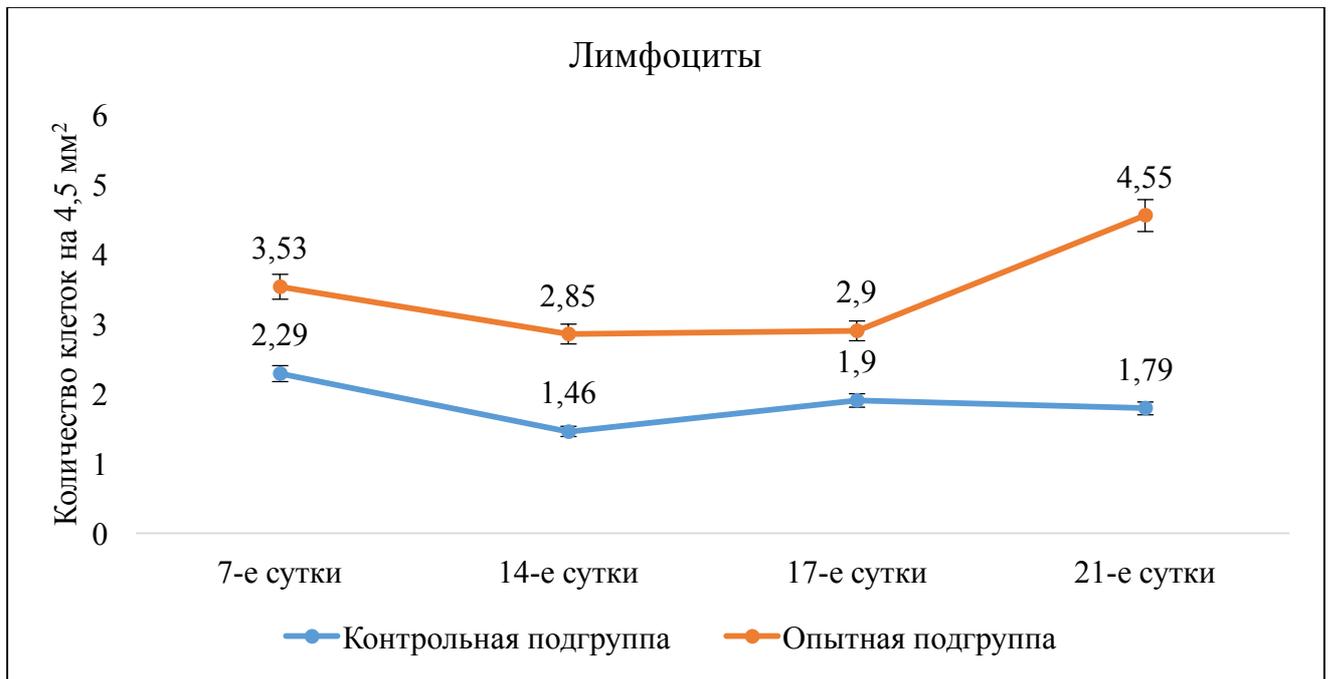


Рисунок 27 – Лимфоциты в стенке желчного пузыря экспериментальных животных.

Таким образом, в экспериментальной модели термической мукоклазии желчного пузыря препарат Ронколейкин зарекомендовал себя в качестве надёжного стимулятора клеточного и гуморального иммунитета и ускорил развитие соединительной ткани в стенке желчного пузыря, что является необходимым условием для облитерации его полости и успешного завершения проведенного хирургического лечения. Учитывая значительную пользу препарата в экспериментальных исследованиях, следующим этапом работы стало изучение эффективности Ронколейкина у пациентов пожилого и старческого возраста с возрастными изменениями иммунитета после термической мукоклазии желчного пузыря.

## ГЛАВА 4. Результаты клинических исследований

### 4.1. Возрастные особенности реактивности организма при остром холецистите

У пациентов старческого возраста концентрация эритроцитов ( $p \leq 0,013$ ) и уровень гемоглобина ( $p \leq 0,01$ ) на всех сроках госпитализации были достоверно ниже, чем в других возрастных группах (таблица 14). Более того, в этой группе отсутствовали колебания показателей «красной» крови, которые могли бы быть связаны с оперативным вмешательством. Наиболее значительное снижение количества эритроцитов ( $p = 0,08$ ) и гемоглобина ( $p = 0,04$ ) на 1-е сутки после операции отмечено у людей пожилого возраста. У пациентов молодого и среднего возраста оперативное вмешательство не оказывало существенного влияния на показатели красной крови. Таким образом, у людей старческого возраста острый холецистит протекает на фоне более низкой концентрации эритроцитов и гемоглобина, пограничных с анемией (рисунок 28).

Наименьшие значения концентрации лейкоцитов на всех сроках госпитализации отмечены у пожилых людей (таблица 15). Напротив, в старческом возрасте острый холецистит протекает на фоне более выраженного лейкоцитоза. На 1-е сутки после оперативного лечения достоверное увеличение (почти на 50%) лейкоцитов наблюдали у пациентов молодого ( $p = 0,002$ ) и среднего ( $p = 0,023$ ) возраста, тогда как у лиц пожилого и старческого возраста этот показатель изменялся незначительно (в пределах 10%). На 5-е сутки после операции количество лейкоцитов достоверно уменьшается у пациентов всех изучаемых групп ( $p < 0,02$ ), но более резкое падение этого показателя происходит у людей молодого и среднего возраста ( $p < 0,002$ ). Различия и колебания количества лейкоцитов в некоторой степени похожи на изменения со стороны сегментоядерных нейтрофилов (СЯН). Доля СЯН до оперативного вмешательства у людей старческого возраста была достоверно выше по сравнению с данным показателем у пациентов других групп ( $p \leq 0,05$ ) (рисунок 29)

Таблица 14 – Концентрация эритроцитов и гемоглобина у пациентов четырех возрастных групп с острым холециститом,  $M \pm m$

Возраст	Эритроциты, кол-во клеток на 1 л крови			Гемоглобин, г/л		
	До операции	1-е сутки после операции	5-е сутки после операции	До операции	1-е сутки после операции	5-е сутки после операции
Молодой	4,45±0,08	4,46±0,09	4,25±0,09	137,6±2,15	136,93±2,52	134,80±2,84
Средний	4,66±0,12 <sup>1</sup>	4,56±0,08	4,50±0,08	143,4±3,05	140,20±2,22	136,33±2
Пожилой	4,62±0,19	4,28±0,17	4,49±0,13	140,87±5,29 <sup>2</sup>	128,73±4,53	134,47±4,08
Старческий	4,11±0,13 <sup>1</sup>	4,00±0,11	3,97±0,09	126,27±4,232 <sup>2</sup>	122,93±3,26	123,27±2,80

Примечание: 1-р =0,013; 2-р=0,01.

Наиболее низкие значения СЯН отмечены у пожилых пациентов, что ярче всего проявляется на 5-е сутки после операции ( $p < 0,004$ ). В пожилом и старческом возрасте изменения СЯН на разных сроках госпитализации, связанные с оперативным лечением, отсутствуют. В молодом и среднем возрасте прослеживается тенденция к увеличению доли СЯН с момента поступления больного в стационар до его выписки (таблица 15).

В этих возрастных группах наблюдается отчётливая динамика и в отношении процента палочкоядерных нейтрофилов (ПЯН), количество которых возрастает почти в 2 раза на 1-е сутки после операции ( $p = 0,067$ ;  $p = 0,04$ ) и также резко (в 2 раза) снижается на 5-е сутки ( $p = 0,015$ ;  $p = 0,0057$ ). Значительное увеличение количества ПЯН после оперативного вмешательства происходит и у людей пожилого возраста ( $p = 0,013$ ), однако уменьшается этот показатель на 5-е сутки не так резко ( $p = 0,024$ ). В старческом возрасте увеличение количества ПЯН после операции выражено наименее значительно ( $p = 0,137$ ), что может быть связано со снижением резервных возможностей и возрастными изменениями иммунной системы. Тем не менее, на 5-е сутки доля ПЯН уменьшается и у лиц этой группы ( $p = 0,025$ ) (таблица 15, рисунок 29).

Наименьшее содержание лимфоцитов отмечено у людей старческого возраста, наибольшее – пожилого. Достоверные различия между группами выявлены только при сравнении показателей пациентов пожилого и старческого возраста ( $p = 0,03$ ). На 1-е сутки после операции у пациентов всех групп наблюдается снижение количества лимфоцитов, которое в наименьшей степени выражено у лиц старческого возраста. Это в очередной раз указывает на проблемы с иммунной системой в старческом возрасте (таблица 15).

Наибольшее количество моноцитов отмечено у пожилых людей до операции ( $p = 0,005$ ,  $p = 0,039$  и  $p = 0,002$  по сравнению с показателями у лиц молодого, среднего и старческого возраста, соответственно) и на 1-е сутки после неё ( $p < 0,05$ ). На 5-е сутки после оперативного вмешательства доля моноцитов увеличивается у пациентов старческого возраста. В результате, этот показатель становится достоверно выше у пациентов пожилого и старческого возраста по

сравнению с лицами молодого и среднего возраста ( $p = 0,004$ ,  $p = 0,01$ ,  $p = 0,014$ ,  $p = 0,049$ ). Количество моноцитов динамично изменяется у людей среднего и пожилого возраста. До операции доля моноцитов у больных этих групп самая высокая, после операции она уменьшается, на 5-е сутки отмечали некоторое повышение. Так как моноциты являются предшественниками макрофагов, эти данные могут свидетельствовать как о резком повышении миграции моноцитов в область послеоперационной раны, где они будут востребованы в качестве фагоцитирующих макрофагов, так и о недостаточности этого звена иммунитета в раннем послеоперационном периоде (таблица 15, рисунок 29).

У пациентов всех изученных групп на всех сроках госпитализации количество эозинофилов не выходило за пределы нормы.

До оперативного вмешательства и на 5-е сутки после него самые низкие показатели общего белка - у лиц старческого возраста ( $p=0,03$ ,  $p=0,04$  и  $p=0,02$  при сравнении с группами молодого и среднего возраста) (таблица 16). Достоверных различий между показателями общего белка у пациентов пожилого и старческого возраста выявлено не было. Следует отметить отсутствие динамики этого показателя во всех изученных группах на разных сроках госпитализации (таблица 16).

Достоверных различий между группами по амилазе обнаружено не было. Наиболее выраженную динамику наблюдали у людей среднего возраста, у которых активность этого фермента увеличивалась на 1-е сутки после операции ( $p=0,048$ ) и снижалась на 5-е ( $p=0,028$ ) (таблица 16).

Уровень мочевины увеличивается прямо пропорционально возрасту (коэффициент корреляции Пирсона  $r = 0,678$ ,  $r = 0,628$ ,  $r = 0,701$  до операции и на 1-е и 5-е сутки после). Наименьшие значения выявлены у людей молодого возраста, наибольшие - в старческом возрасте ( $p < 0,02$ ). Динамично этот показатель изменяется у лиц молодого и среднего возраста. После операции наблюдается повышение ( $p = 0,005$  – для молодого и  $p = 0,06$  – для среднего возраста), а на 5-е сутки после неё – достоверное снижение уровня мочевины в крови ( $p = 0,0003$  и  $p$

= 0,008, соответственно). У пациентов пожилого и старческого возраста этот показатель на 1-е и 5-е сутки практически не меняется (рисунок 30).

Таблица 15 – Показатели лейкоцитарной формулы у больных острым холециститом четырех возрастных групп,  $M \pm m$

Показатель		Возраст			
		Молодой	Средний	Пожилой	Старческий
Лейкоциты, на 1л крови	до операции	9,45±1,10	9,07±1,57	8,14±0,94	10,41±1,42
	1-е сутки после операции	14,54±1,29	13,41±1,49	9,50±0,56	11,75±1,57
	5-е сутки после операции	8,68±0,54	8,03±0,89	7,58±0,31	7,91±0,90
Сегменто-ядерные нейтрофилы, %	до операции	55,07±1,87	54,00±2,69	53,40±2,11 <sup>1</sup>	60,40±2,75 <sup>1</sup>
	1-е сутки после операции	58,6±2,31	56,80±2,88	56,33±1,68	60,13±2,11
	5-е сутки после операции	62,20±2,01	61,47±2,46	53,07±1,70	60,93±2,35
Палочко-ядерные нейтрофилы, %	до операции	9,47±3,16	8,47±3,13	6,80±1,43	8,40±1,60
	1-е сутки после операции	10,87±3,15	15,73±2,79	12,13±1,88	11,20±2,05
	5-е сутки после операции	8,80±1,88	6,73±2,01	7,87±1,02	6,60±1,14
Лимфоциты, %	до операции	28,53±2,88	26,67±2,72	30,40±2,12 <sup>2</sup>	23,20±3,17 <sup>2</sup>
	1-е сутки после операции	20,00±1,81	20,93±2,17	22,87±1,54	20,00±2,60
	5-е сутки после операции	27,33±1,76	27,53±2,06	28,40±1,37	26,27±2,16
Эозинофилы, %	до операции	1,00±0,29	1,40±0,33	1,13±0,36	1,67±0,41
	1-е сутки после операции	0,60±0,22	1,53±0,28	1,07±0,24	1,27±0,34
	5-е сутки после операции	0,80±0,38	1,93±0,60	1,40±0,22	0,80±0,25
Моноциты, %	до операции	6,20±0,82 <sup>3</sup>	8,87±1,84	10,67±1,49 <sup>3</sup>	5,20±0,99
	1-е сутки после операции	6,20±0,81	5,53±0,71	8,73±1,36	6,07±0,72
	5-е сутки после операции	5,57±0,65	6,13±0,73	9,47±1,24	7,80±0,96

Примечание: 1- p=0,05; 2- p=0,03; 3- p=0,005.

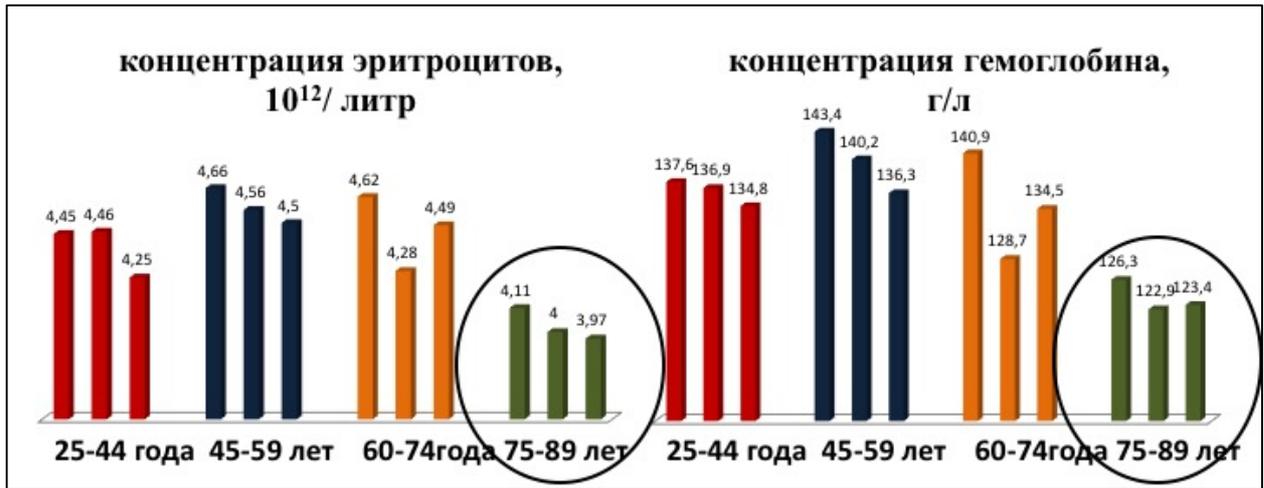


Рисунок 28 – Концентрация эритроцитов и гемоглобина у больных острым холециститом различных возрастных групп на разных сроках госпитализации



Рисунок 29 – Показатели лейкоцитарной формулы у больных острым холециститом различных возрастных групп на разных сроках госпитализации.

После операции наблюдается повышение ( $p=0,005$  – для молодого и  $p=0,06$  – для среднего возраста), а на 5-е сутки после неё – достоверное снижение уровня мочевины в крови ( $p=0,0003$  и  $p=0,008$ , соответственно) (таблица 16).

У пациентов пожилого и старческого возраста этот показатель на 1-е и 5-е сутки практически не меняется. Таким образом, в пожилом и старческом возрасте острый холецистит протекает на фоне повышенного уровня мочевины, который не снижается после оперативного лечения.

Содержание общего билирубина на всех сроках госпитализации достоверно выше в старческой возрастной группе. До операции этот показатель в 3–4 выше у пациентов молодого ( $p=0,029$ ) и среднего ( $p=0,034$ ) возраста (таблица 16). На 1-е и 5-е сутки содержание общего билирубина у людей старческого возраста значительно превышает показатели всех трёх оставшихся возрастных групп ( $p\leq 0,05$ ). Значения общего билирубина у пациентов молодого и среднего возраста практически идентичны. Более того, на 5-е сутки госпитализации в этих группах происходит достоверное снижение этого показателя ( $p\leq 0,05$ ), тогда как у людей пожилого и старческого возраста статистически значимой разницы нет ( $p=0,078$ ). Таким образом, острый холецистит в старческом возрасте протекает с повышенным уровнем билирубина, который, несмотря на некоторое снижение к 5-му дню после операционного вмешательства, остаётся несколько повышенным к моменту выписки больных (таблица 16).

У молодых пациентов уровень АСТ на момент поступления и в течение всего пребывания в хирургическом отделении был в пределах нормы. Незначительное увеличение (в 1,5 раза) наблюдали у лиц среднего возраста. Наиболее выраженное (двухкратное) увеличение активности этого фермента выявлено у пациентов пожилого и старческого возраста. На всех сроках госпитализации уровень АСТ значительно ниже у молодых по сравнению с людьми среднего, пожилого и старческого возраста (до операции  $p=0,004$ ,  $p=0,024$ ,  $p=0,00012$ , на 1-е сутки  $p=0,002$ ,  $p=0,007$  и  $p=0,0001$ , на 5-е сутки  $p=0,0005$ ,  $p=0,004$  и  $p=0,0005$ , соответственно). Достоверных различий между группами среднего, пожилого и старческого возраста не выявлено. Несмотря на некоторое снижение АСТ к 5-м суткам после операции, активность этого фермента в указанных трёх группах остаётся выше референтных значений. Во всех группах (60 пациентов с диагнозом острого холецистита) наблюдали положительную корреляционную зависимость АСТ с возрастом ( $r=0,494$ ,  $r=0,507$ ,  $r=0,561$ , соответственно, до операции, на 1-е и 5-е сутки после) (рисунок 31).

Похожие изменения характерны и для АЛТ. Оперативное лечение острого холецистита в старческом возрасте в короткие сроки практически не влияет на

уровень АЛТ (таблица 16). Частично это может быть связано с возрастным повышением активности этого фермента. Самые низкие значения АЛТ - у пациентов молодого возраста ( $p \leq 0,05$ ), высокие (увеличение в 2–2,5 раза) и соизмеримые между собой - у лиц среднего, пожилого и старческого возраста. На 1-е сутки после операции существенных изменений АЛТ не происходит ни в одной из исследуемых групп. На 5-е сутки наблюдали некоторое снижение, не являющееся достоверным. Наименьший сдвиг этого показателя зафиксирован в старческой возрастной группе (таблица 16, рисунок 32).

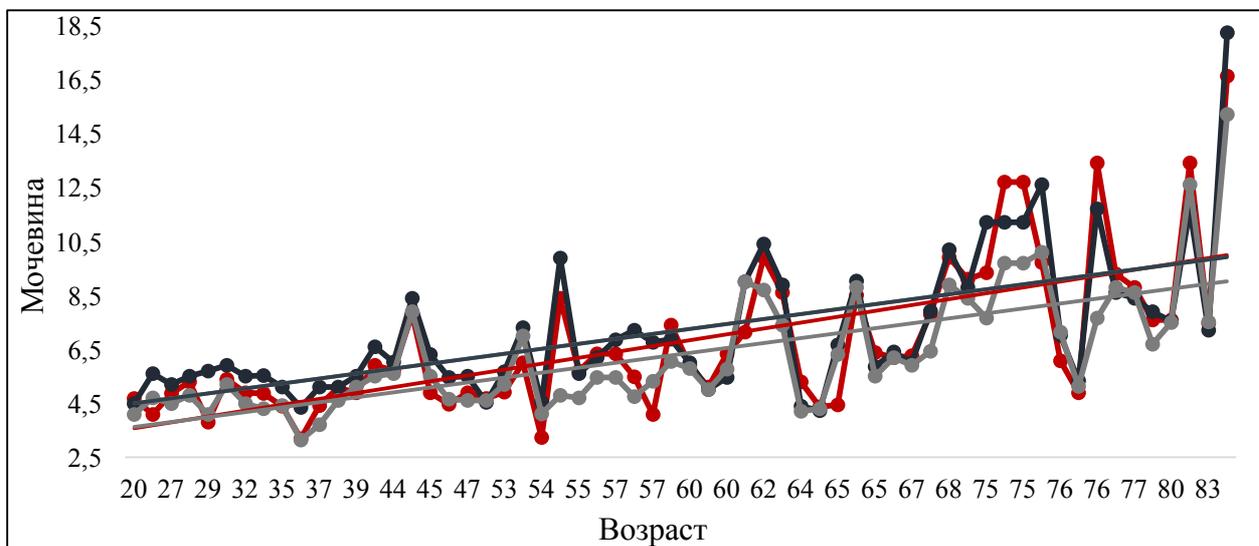


Рисунок 30 – Возрастные изменения уровня мочевины у пациентов с острым холециститом. Красный – значения до операции, синий – 1-е сутки после операции, зелёный – на 5-е сутки после операции

Таблица 16 – Биохимические показатели крови у пациентов четырех возрастных групп

Показатель		Возраст			
		Молодой	Средний	Пожилой	Старческий
Общий белок, г/л	до операции	72,6±1,3	72,4±1,1 <sup>1</sup>	70,6±2,7	69,1±1,3 <sup>1</sup>
	1-е сутки после операции	71,3±1,3	72,5±1,1	70,9±1,4	69,9±1,4
	5-е сутки после операции	72,4±1,	72,7±0,8	72,1±1,2	69,4±1,1
Мочевина, ммоль/л	до операции	4,7±0,1 <sup>2</sup>	5,6±0,3	6,8±0,4	9,9±0,8 <sup>2</sup>
	1-е сутки после операции	5,4±0,1	6,4±0,3	7±0,5	9,9±0,8
	5-е сутки после операции	4,5±0,1	5,3±0,2	6,5±0,4	8,8±0,6
Амилаза, ед/л	До операции	113,1±13,6	124,3±10,5	119,4±17,3	108,1±10,7
	1-е сутки после операции	139,6±26,1	178,4±30,9	101,5±10,9	132,7±20,7
	5-е сутки после операции	117±24,5	112,6±14,6	98,3±10,7	116,4±16,1
АСТ, ед/л	до операции	28±4,3 <sup>3</sup>	53,5±8,1	75,4±23,3	71,6±9,8 <sup>3</sup>
	1-е сутки после операции	29,9±3,9	56,1±7,5	63,1±12,7	72,5±9,8
	5-е сутки после операции	22,8±2,6	42,4±4,8	56,3±11,9	56±7,3
АЛТ, ед/л	до операции	45,7±11,8	80,5±13,4	79,4±17,5	76,5±10,7
	1-е сутки после операции	50,3±10,7	78±10,3	136,9±72,6	83±12,7
	5-е сутки после операции	37±7,4	59±6,6	62,8±10,8	74,7±9,8
Общий билирубин, мкмоль/л	до операции	15,9±1,3 <sup>4</sup>	17,7±1,3 <sup>5</sup>	47,2±27,5	63,5±25 <sup>4; 5</sup>
	1-е сутки после операции	17,6±0,9 <sup>6</sup>	18,2±1,3 <sup>6</sup>	17,8±1,6	45,6±17,1
	5-е сутки после операции	13,6±0,6	14,5±1	15,4±0,9	26,8±7,5

Примечание: 1- $p < 0,04$ ; 2- $p = 0,02$ ; 3- $p = 0,024$ ; 4-  $p = 0,029$ ; 5- $p = 0,034$ ; 6- $p = 0,05$ .

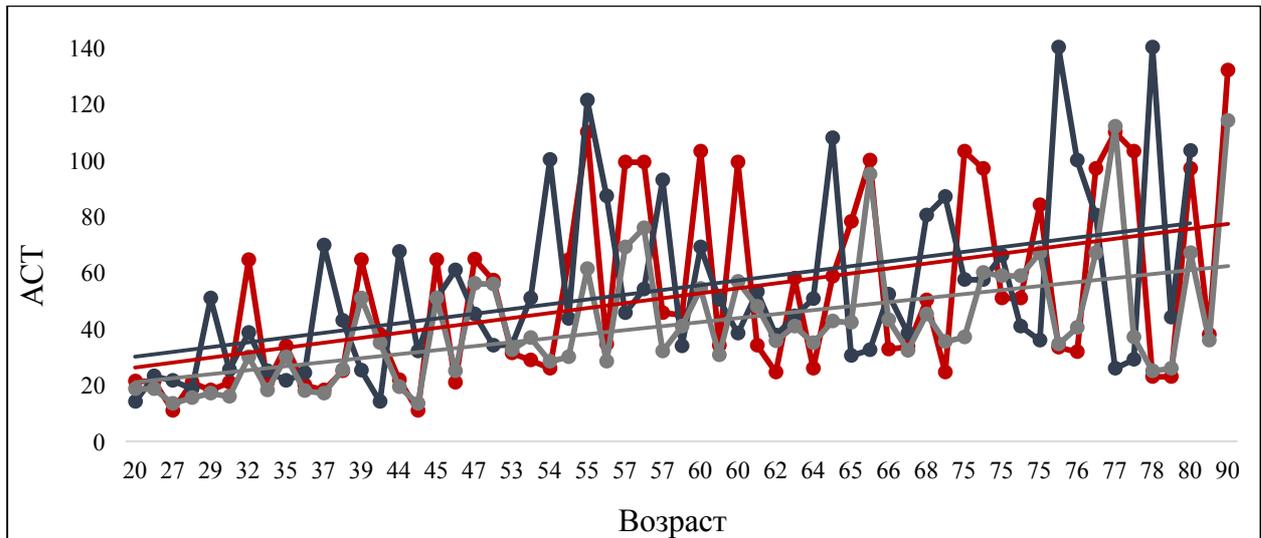


Рисунок 31 – Возрастные изменения уровня АСТ у пациентов с острым холециститом. Красный – значения до операции, синий – 1-е сутки после операции, зелёный – на 5-е сутки после операции

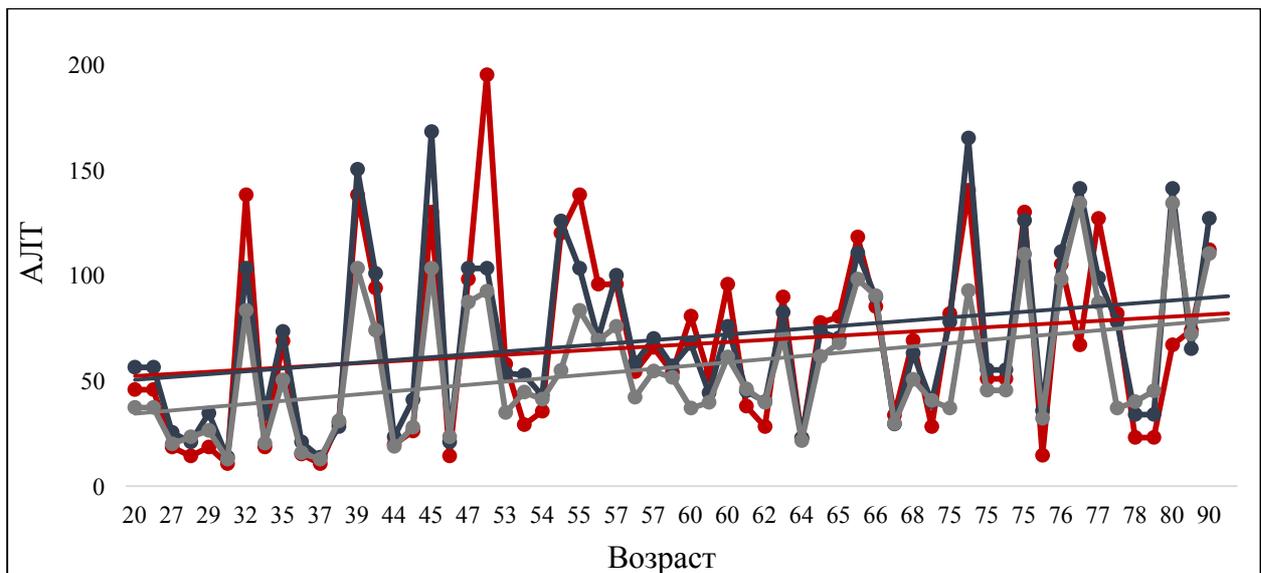


Рисунок 32 – Возрастные изменения уровня АЛТ у пациентов с острым холециститом. Красный – значения до операции, синий – 1-е сутки после операции, зелёный – на 5-е сутки после операции

Размеры желчного пузыря, по данным УЗИ, у пациентов пожилого ( $4,9 \times 10,3$ ) и старческого ( $5,3 \times 8,8$ ) возраста были больше, чем у лиц молодого ( $4,1 \times 8,3$ ) или среднего ( $4,8 \times 8,3$ ) возраста. Статистически достоверные различия выявлены в

отношении его поперечного размера для молодых пациентов в сравнении с людьми пожилого ( $p=0,05$ ) и старческого ( $p=0,008$ ) возраста.

Полученные данные свидетельствуют о снижении защитных сил организма в пожилом и старческом возрасте при остром холецистите, что увеличивает операционно-анестезиологический риск и требует дифференцированного подхода к выбору объёма и метода оперативного вмешательства и коррекции имеющегося иммуннодефицита.

#### **4.2. Морфологические изменения в желчном пузыре при остром холецистите у пациентов четырёх возрастных групп**

При микроскопическом исследовании стенки удаленного желчного пузыря чаще выявлялись атрофические изменения слизистой оболочки, проявляющиеся сглаженностью или даже отсутствием складок и эпителиальной выстилки. В соединительной ткани отмечалось полнокровие сосудов, наличие значительного количества новообразованных сосудов, различная степень выраженности лимфоцитарной инфильтрации и фиброзных изменений. В ряде случаев имело место присутствие нейтрофилов и эозинофилов. В мышечной оболочке отмечены атрофические изменения, проявляющиеся уменьшением количества гладкомышечных пучков и снижением плотности расположения гладких миоцитов, сочетавшихся с разрастанием соединительной ткани. Нередко определялась гидропическая дистрофия гладких миоцитов. Однако достоверных различий в площади ядер гладких миоцитов у пациентов различных возрастных групп установлено не было.

Степень фиброза наружной соединительнотканной оболочки, оцениваемая по количеству и плотности коллагеновых волокон, положительно коррелировала с возрастом ( $r = 0,400$ ). У пациентов до 50 лет разрастание плотной соединительной ткани было выражено в меньшей степени, чем у пациентов после 50 лет ( $p = 0,028$ ).

Таблица 17 – Размеры ядер эпителиальных и гладко-мышечных клеток

Возрастная группа	Среднее значение (M) ± средняя ошибка средней арифметической (m), мкм <sup>2</sup>	
	Эпителиальные клетки	Гладко-мышечные клетки
Молодой	38,63±1,98 <sup>1</sup>	79,27±16,62
Средний	44,85±4,22	83,97±13,57
Пожилой	49,81±4,36 <sup>1</sup>	80,28±7,83
Старческий	34,54±5,47	78,46±9,80

Примечание: 1-р = 0,018

Данная особенность связана с тем, что у пациентов старше 50 лет острое воспаление чаще развивается на фоне хронического течения холецистита с характерными периодами обострения и ремиссии. Поэтому с возрастом данных эпизодов будет накапливаться больше, следовательно, возрастёт и степень фиброзных изменений. При сравнении по группам, в группе молодых больных фиброзные изменения были выражены в меньшей степени, чем у трёх остальных групп среднего, пожилого и старческого возраста, взятых вместе ( $p = 0,018$ ) или по отдельности ( $p < 0,05$ ) (рисунок 33).

При анализе клеточного состава этой оболочки у пациентов до 50 лет лимфоцитов было меньше, чем у больных старше 50 лет ( $p = 0,045$ ), что было хорошо заметно при микроскопическом исследовании, продемонстрировавшим более высокую степень лимфоцитарной инфильтрации у пациентов пожилого и старческого возраста (рисунок 32). В слизистой оболочке наблюдалась такая же тенденция. У больных молодого и среднего возраста лимфоцитов было меньше, чем у пациентов пожилого и старческого возраста ( $p = 0,07$ ).

Таблица 18 – Клеточный состав наружной соединительнотканной оболочки желчного пузыря у пациентов различных возрастных групп

Возрастная группа	Среднее значение (M) ± средняя ошибка средней арифметической (m)						
	Наружная соединительнотканная оболочка						
	Фибробласты	Макрофаги	Нейтрофилы	Эозинофилы	Лимфоциты	Моноциты	Плазм. клетки
Молодой	7,38± 0,8 <sup>1</sup>	1,96± 0,5	0,86± 0,4	3,18± 2,01	9,00± 3,3	0,20± 0,1	
Средний	5,37± 0,99 <sup>1</sup>	4,80± 1,24	3,00± 1,67	2,20± 0,79	14,83± 3,19	0,85± 0,78	
Пожилой	6,57± 0,91 <sup>1</sup>	2,80± 0,98	1,57± 0,58	4,82± 3,00	16,98± 5,83	0,18± 0,07	0,14± 0,0
Старческий	8,98± 2,54 <sup>1</sup>	1,48± 0,36	0,93± 0,51	3,85± 3,69	22,70± 9,50	0,20± 0,00	0,1± 0,0

Примечание: Плазм. клетки - плазматические клетки. 1-p = < 0,05.

Таблица 19 – Клеточный состав собственной пластинки слизистой оболочки желчного пузыря у пациентов различных возрастных групп

Возрастная группа	Среднее значение (M) ± средняя ошибка средней арифметической (m)						
	Слизистая оболочка						
	Фибробласты	Макрофаги	Нейтрофилы	Эозинофилы	Лимфоциты	Моноциты	Плазм. клетки
Молодой	9,93± 1,3 <sup>3</sup>	2,90± 0,3 <sup>2</sup>	1,18± 0,7	1,63± 0,7	10,68± 6,7	0,30± 0,4	0,1± 0,0
Средний	7,1± 1,6	2,7± 0,6 <sup>1;2</sup>	6,9± 5,7	2,48± 1,6	9,32± 4,3	0,3± 0,0	1,1± 1,4
Пожилой	6,6± 1,3 <sup>3</sup>	3,8± 0,5 <sup>2</sup>	5,1± 2,3	1,51± 0,6	16,9± 4,1	0,44± 0,4	0,22± 0,1
Старческий	8,5± 1,8	5,02± 1,6 <sup>2</sup>	0,5± 0,2	8,9± 0,0	17,5± 8,3	0,15± 0,1	2,0± 0,0

Примечание: Плазм. клетки - плазматические клетки. 1-p = 0,03; 2-p = 0,015; 3-p = 0,045.

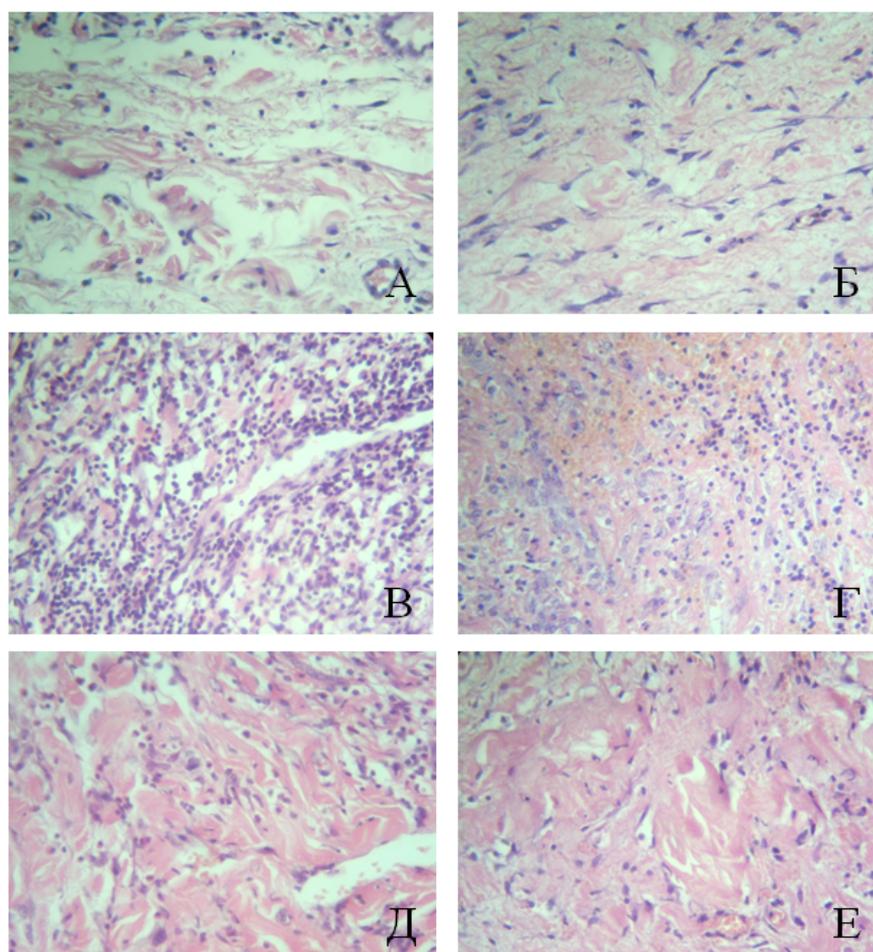


Рисунок 33 – Наружная соединительнотканная оболочка (адвентиция) желчного пузыря у пациентов с острым холециститом: А – 32 лет, Б – 49 лет, В – 62 лет, Г – 73 лет, Д – 63 лет, Е – 73 лет. У пациентов старше 50 лет отмечается более высокая степень лимфоцитарной инфильтрации (В, Г) и разрастание плотной соединительной ткани (Д, Е). Окр. Г + Э. Ув. х 400.

Наибольшее количество макрофагов зафиксировано в подслизистой оболочке пациентов средней возрастной группы, где их было значительно больше, чем у молодых больных ( $p = 0,03$ ) и по сравнению с пациентами пожилой и старческой групп ( $p = 0,015$ ). В слизистой оболочке наблюдалась обратная тенденция. Макрофагов у пациентов молодого и среднего возраста было меньше, чем у больных пожилого и старческого возраста ( $p = 0,03$ ). Фибробластов в слизистой было больше у пациентов молодого возраста, чем в группе пожилых пациентов ( $p = 0,045$ ). В наружной соединительнотканной оболочке достоверных

различий в концентрации фибробластов у пациентов различных возрастных групп установлено не было.

Несмотря на отсутствие статистически значимых отличий, следует отметить более высокую частоту встречаемости нейтрофилов в соединительной ткани желчного пузыря у пациентов молодого и, особенно, среднего возраста. Самые низкие количественные показатели нейтрофилов имелись в старческой группе. Это можно связать с более высокой интенсивностью воспалительного процесса и преобладанием острого характера воспаления у более молодых пациентов и наличием хронического затяжного воспаления меньшей интенсивности у людей старческого возраста. Возрастные особенности были отмечены для ядер покровного эпителия желчного пузыря. В группе пожилых больных размеры ядер были достоверно больше, чем у молодых ( $p = 0,018$ ) (рисунок 34).

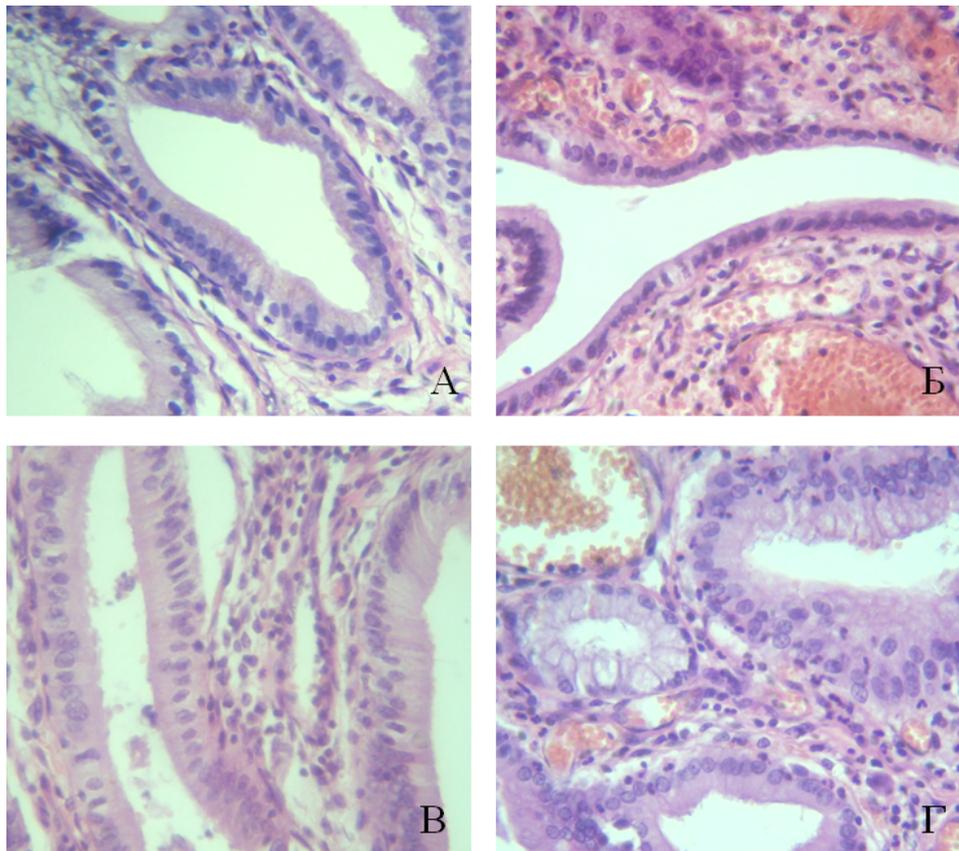


Рисунок 34 – Покровный эпителий желчного пузыря пациентов с острым холециститом: А – 32 лет, Б – 37 лет, В – 63 лет, Г – 73 лет. Размеры ядер эпителиоцитов пациентов пожилого возраста больше, чем у больных молодой возрастной группы. Окр. Г + Э. Ув. х 400.

О возрастной активизации метаболических процессов в эпителии говорит и его повышение в группе пациентов среднего возраста. У молодых пациентов ядра эпителия были меньше, чем в средней и пожилой группах, вместе взятых ( $p = 0,028$ ). В то же время, в старческой группе происходит уменьшение размеров ядер эпителия, свидетельствующее о нарушении функциональной активности эпителиоцитов, участвующих в транспорте воды и ионов для увеличения концентрации желчи.

Результаты ретроспективного и морфологического исследования наглядно демонстрируют различия в течении острого холецистита у пациентов пожилого и старческого возраста. В связи с этим, этим группам больных требуется более тщательный выбор способа оперативного лечения и включение ряда дополнительных мероприятий в дооперационное обследование. Немаловажное значение имеют изменения в системе иммунитета, в связи с чем группе больных пожилого и старческого возраста было выполнено подробное исследование иммунного статуса. Для определения оптимального способа оперативного лечения этим группам проведено комплексное обследование с учётом вида дренирующей операции.

#### **4.3. Результаты лечения больных острым холециститом с высокой степенью операционно – анестезиологического риска с использованием дренирующих операций.**

Обследовано 46 больных КГКБ № 4 г. Курска с высокой степенью операционно – анестезиологического риска и показаниями к дренирующим операциям. Распределение больных по полу и возрасту представлено в таблице 20.

Таблица 20 – Распределение больных по возрасту и полу

Пол	Возраст, лет				Всего	
	60 - 74		75 - 89			
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Мужчины	8	40,0	10	38,5	18	39,1
Женщины	12	60,0	16	61,5	28	60,9
Всего	20	100	26	100	46	100

Из таблицы 20 следует, что преобладали больные женского пола и старшей возрастной группы.

Структура сопутствующей патологии у наблюдаемых больных представлена в таблице 21. У многих больных имела место коморбидная патология. На основании данных литературы и собственного клинического исследования нами была разработана шкала оценки тяжести состояния больных острым холециститом, которая как нам представляется, проста и доступна для применения в большинстве лечебных учреждений, оказывающих экстренную хирургическую помощь для определения показаний к дренирующей операции (таблица 23).

При наличии суммарного количества 53 и более баллов -отдавали предпочтение ЧЧМХС. При количестве баллов менее 52-склонялись к "традиционной" холецистостомии с последующей термической мукоклазией. Чрезвычайно важное значение для выбора дренирующей операции уделяли данным УЗИ, при выполнении которого учитывали форму, положение желчного пузыря по отношению к ткани печени. Особый акцент делали на его «внутрипеченочную» локализацию, когда желчный пузырь залегает глубоко в междолевой борозде. При этом на сонограмме создается впечатление его «погружения» в ткань печени, которое встретилось нам у 2 наблюдаемых больных (рисунок 35).

Таблица 21 – Сопутствующая патология, выявленная у наблюдаемых больных

№	Характер патологии	I группа		II группа	
		N= 20		N= 26	
		абс.	%	абс.	%
1.	Патология сердечно сосудистой системы (ИБС, мерцательная аритмия, атеросклеротический кардиосклероз, острый инфаркт миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения атеросклероз аорты и коронарных сосудов, стенокардия, постинфарктный кардиосклероз, гипертоническая болезнь)	20	100,0	26	100,0
2.	Патология пищеварительной системы (гастрит, гастродуоденит, панкреатит, цирроз печени, гепатит)	20	100,0	26	100,0
3.	Патология дыхательной системы (хроническая эмфизема легких, бронхиальная астма, пневмония, бронхит, плеврит, легочная недостаточность)	9	45,0	8	30,8
4.	Патология мочевыделительной системы (гломерулонефрит, пиелонефрит, хроническая болезнь почек)	4	20,0	4	15,4
5.	Патология эндокринной системы и нарушение обмена веществ (сахарный диабет, тиреоидиты, тиреотоксикоз, ожирение).	14	70,0	12	46,2

Таблица 22 – Прогностическая шкала оценки тяжести состояния больных острым холециститом с высоким операционно-анестезиологическим риском

Фактор риска	Балл	Фактор риска	Балл
- возраст 45-59 лет	1	- различные пороки сердца	3
- возраст 60-75 лет	2	- искусственный водитель ритма (ЭКС)	2
- возраст 75-90 лет	3	- варикозная болезнь; посттромботическая болезнь нижних конечностей	2
-возраст старше 90 лет	3		
- ожирение I степени	1	- проба Штанге < 15 сек., проба Сообразе < 10 сек.	3
- ожирение II степени	2	- рентгенологические признаки пневмосклероза и эмфиземы легких	2
- ожирение III-IV степени	3	- ХЗНЛ ( хронический бронхит, пневмония, бронхоэктазы, бронхиальная астма) и острые заболевания легких	2
-нарушения проводимости (АВ- блокада, блокада ножек пучка Гиса)	3		
- выраженный коронарокардиосклероз (ЭКГ-диагностика)	3	- пульмонэктомия в анамнезе	3
- ИБС с числом приступов стенокардии до 5 в день	1	- нарушения сознания	2
- ИБС с числом приступов стенокардии более 5 в день	2	- острое нарушение мозгового кровообращения	3
- острый инфаркт миокарда (до 2 недель)	3	- увеличение печени ( до 4 см ниже края реберной дуги)	2
-инфаркт миокарда в последние 6 мес.	2	- жажда	2
-инфаркт миокарда в более отдаленные сроки	1	- хроническая болезнь почек	3
- повторные инфаркты миокарда	3	- желтуха	3
-НК I-II степени	1	- температура > 38,5 С	2
-НК III степени	2	- общий белок < 55 г/л	2
- артериальная гипертензия (АД систолическое выше 180 мм.рт.ст)	2	- тахипноэ (> 30 в минуту)	3
- артериальная гипотензия (АД систолическое ниже 100 мм.рт.ст.)	1	- гемоглобин > 160 г/л	2
		- гемоглобин < 80 г/л	3
- тахикардия (> 120 в минуту)	3	- гематокрит > 55 %	2
-брадикардия (< 60 в минуту)	3	- гематокрит < 25 %	2
-нарушения ритма (мерцание, экстрасистолия)	3	- I типа	1
		- II типа	2

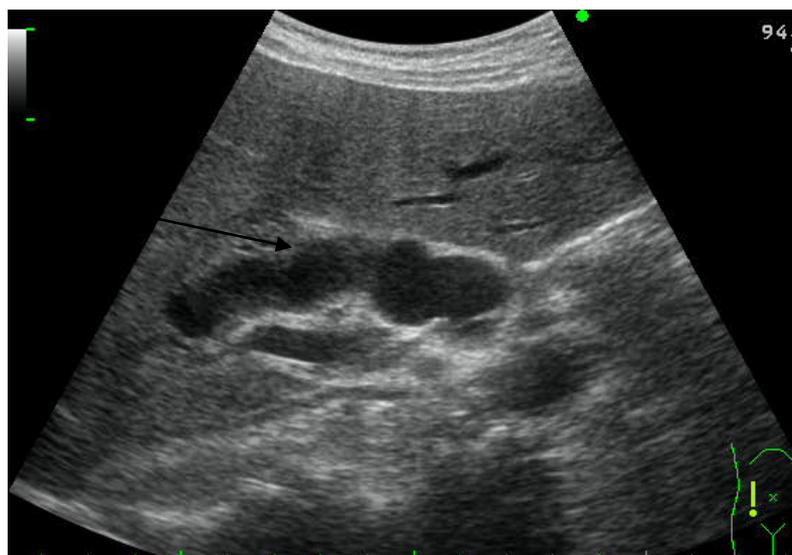


Рисунок 35 – Ультрасонограмма больной И. Стрелкой указан желчный пузырь, расположенный глубоко в печеночной паренхиме. При таком расположении желчного пузыря относительно ткани печени предпочтение отдается ЧМХС.

Обращали внимание на размеры желчного пузыря. Наиболее информативно об этом позволяет судить размер поперечника области тела (в норме 35-45 мм). Увеличение его более 90 x 30 мм является достоверным признаком обструкции желчного пузыря. Наличие в его просвете взвешенных, гиперэхогенных структур говорит о деструктивном процессе. Судить о степени воспалительного процесса можно и по толщине стенки желчного пузыря. При распространении воспалительного процесса на паравезикальную клетчатку, сальник и петли кишечника внешний контур порой не удается отличить от вовлеченных в процесс образований. Внутренний контур при далеко зашедшем воспалительном процессе также становится неровным и нечетким ввиду отслойки слизистой оболочки на определенных участках. Подобные изменения наблюдались у 25 больных из 46. Наличие выраженных гипоэхогенных очагов в стенке расценивали как прогностически неблагоприятный признак в плане высокого риска развития перфорации, что имело место у 14 больных. Учитывали размеры и количество конкрементов, в связи с определенными трудностями при литоэкстракции мелких множественных конкрементов и осложнениями в виде миграции конкрементов в

различные отделы общего желчного протока. Лимфаденопатия дополняет сонографическую картину. Довольно часто увеличенные лимфатические узлы визуализировались в области шейки желчного пузыря, ворот печени и по ходу печеночно-двенадцатиперстной связки.

Особое значение при выборе способа дренирующей операции придавали расстоянию от дна желчного пузыря до поверхности передней брюшной стенки (толщина передней брюшной стенки). Толщина передней брюшной стенки, по нашему мнению, может создать большие технические трудности при выполнении «традиционной» холецистостомии. При толщине брюшной стенки более 6,5 см предпочтение отдавали ЧЧМХС. Важное значение придавали визуализации общего желчного протока. При наличии желчной гипертензии (диаметр общего протока больше 9 мм) планировали транспапиллярное разрешение холедохолитиаза. Все вышеназванные параметры оценивали в динамике в ближайшие 24-72 часа после приступа острого холецистита. Учитывая степень операционно - анестезиологического риска и результаты УЗИ, принимали окончательное решение о выборе способа дренирующей операции.

Пациенты были разделены на две группы. В первую группу вошло 20 больных, которым выполнялось ЧЧМХС. Критериями для включения больных в эту группу служили: сумма баллов 53 и более (15 пациентов), а также отсутствие благоприятных топографо-анатомических возможностей для выполнения «традиционной» холецистостомии (у 5 пациентов). У двух больных имело место «внутрипеченочное» расположение желчного пузыря. У трёх больных толщина передней брюшной стенки достигала в среднем до 6,5 см. Летальных исходов в этой группе не было. Для наглядной демонстрации приводится выписка из истории болезни.

#### Клинический пример №1.

Больная Л., 70 лет поступила в КГКБ № 4 через 4 суток от начала заболевания, с жалобами на выраженные боли в правом подреберье и эпигастральной области, тошноту, горечь во рту, рвоту более 3-4 раз с примесью желчи, приносящую кратковременное облегчение, сухость во рту, одышку.

Общее состояние тяжёлое. Кожные покровы бледные. Температура тела 38,6<sup>0</sup>С В легких дыхание жесткое, выслушиваются единичные сухие хрипы, ЧДД- 25 в мин. Тоны сердца приглушены, ритм не правильный, ЧСС - 93 уд. в мин. Живот не вздут, в правом подреберье и эпигастрии умеренная мышечная защита, там же сомнительные симптомы раздражения брюшины, положительные «пузырные» симптомы.

Общий анализ крови: эритроциты -  $3,64 \times 10^{12}/л$ ; гемоглобин - 105 г/л; лейкоциты -  $13,1 \times 10^9/л$ ; ПЯН - 8%; СЯН - 78%; лимфоциты - 12%; моноциты - 2%. Биохимический анализ крови: общий белок - 63,0 г/л; общий билирубин - 11,8 мкмоль/л; креатинин - 580,0 мкмоль/л; мочевины - 24,2 ммоль/л; глюкоза - 6,0 ммоль/л.

УЗИ (заключение): Толщина передней брюшной стенки в области правого подреберья составляет 5,2 см. Печень увеличена на 3,0 см., повышенной эхогенности, среднезернистая. ВПЖХ не расширены, общий желчный проток 7 - 8 мм. Желчный пузырь размерами 13,6 x 6,5 см., стенка утолщена до 5 - 6 мм. В просвете множественные разнокалиберные конкременты.

Консультация терапевта: ГБ III ст. II ст., риск 4 кризовое течение. ГМЛЖ. ИБС: фибрилляция предсердий пароксизмальная форма, ХСН III, ФК III. ОНМК в 2016 г. ХБП 4 ст. 4 ст. Хронический необструктивный бронхит, стадия неполной ремиссии, пневмосклероз. Эмфизема легких. ДН II. Ожирение II ст. ( ИМТ = 37,6). Больная проходит гемодиализ в условиях регионального диализного центра каждые 3 дня.

Рентгенография органов грудной клетки: картина пневмосклероза, эмфизема легких, сердце расширено за счет правых и левых отделов, аорта уплотнена.

ФГДС (заключение): Тотальный эрозивный гастрит.

ЭКГ (расшифровка): Мерцательная аритмия, фибрилляция предсердий пароксизмальная форма. ГМЛЖ, риск 4 . Метаболические нарушения в миокарде.

Клинический диагноз: ЖКБ. Острый флегмонозный холецистит. Тотальный эрозивный гастрит. ГБ III ст. II ст., риск 4, кризовое течение. ГМЛЖ. ИБС: фибрилляция предсердий, пароксизмальная форма, ХСН III, ФК III. ОНМК в 2016

г. ХБП 4ст. Хронический необструктивный бронхит, стадия неполной ремиссии, пневмосклероз. Эмфизема легких. ДН II. Ожирение II ст. ( ИМТ=37,6).

Операционно-анестезиологический риск IV. Сумма баллов- 62.

Так как сумма баллов по предложенной шкале составила более 53, больной показана ЧЧМХС. Операция: чрескожная-чреспеченочная микрохолецистостомия под УЗ-контролем. Под местной анестезией Sol. Novocaini 0,25% - 40,0 мл выполнен прокол передней брюшной стенки в 10-ом межреберье справа. Под прямым ультразвуковым контролем произведена толстоигольная пункция желчного пузыря через тонкий слой печени. Получена мутная желчь с примесью гноя. Под УЗ-контролем введен проводник. По проводнику на интубаторе в просвет желчного пузыря установлен дренаж с памятью формы, позиционирован. Дренаж фиксирован к коже Асептическая повязка.

Послеоперационный диагноз: ЖКБ. Острый деструктивный холецистит.

Послеоперационный период протекал без особенностей. Больная выписана на 14-е сутки с дренажем под наблюдение хирурга по месту жительства. Даны рекомендации по уходу за дренажной трубкой, с последующей явкой через 10-12 дней для УЗ-контроля и решения вопроса об удалении дренажа.

Во вторую группу вошли 26 пациентов, у которых суммарное количество баллов было 52 и менее, и имелись технические условия для выполнения «традиционной» холецистостомии, литоэкстракции и последующей термической мукоклазии желчного пузыря. Помимо этого, вторая группа была разделена на две подгруппы. В I, или контрольную вошли 14 пациентов, которым была проведена «традиционная» холецистостомия, литоэкстракция и термическая мукоклазия желчного пузыря, по методике, разработанной на кафедре хирургических болезней №2 (патент РФ №2396915). Во II, основную, включили 12 пациентов, лечение которых дополнялось введением иммуномодулятора Ронколейкина для коррекции иммунологических нарушений и опосредованной стимуляции роста соединительной ткани с целью более быстрой облитерации полости желчного пузыря. Ронколейкин вводился подкожно в верхнюю треть плеча в дозировке

500000 ME (0,5 мг) на следующий день после операции и через 3 дня. Наблюдаемые подгруппы не отличались по возрасту (таблица 23).

У всех больных второй группы размеры желчного пузыря были  $>90 \times 30$  мм, что достоверно говорит о деструктивном характере процесса. Значительных различий по таким параметрам как продольный и поперечный размер и толщина желчного пузыря установлено не было.

Таблица 23 – Возраст пациентов, которым выполнена «традиционная» холецистостомия с последующей термической мукоклазией желчного пузыря

Параметр	Среднее значение (M) ± средняя ошибка средней арифметической (m)	
	I подгруппа (n = 14)	II подгруппа (n = 12)
Возраст, лет	75,86 ± 3,31	71,17 ± 2,29

Таблица 24 – Толщина стенки и размеры желчного пузыря пациентов, которым выполнена «традиционная» холецистостомия с последующей термической мукоклазией желчного пузыря

Параметр	Среднее значение (M) ± средняя ошибка средней арифметической (m)	
	I подгруппа (n = 14)	II подгруппа (n = 12)
Толщина стенки, мм	3,86±0,37	4,83±0,34
Продольный размер, мм	105,9±6,90	101,2±10,3
Поперечный размер, мм	39,4±5,30	38,3±3,90

Таким образом, из таблицы 24 следует, что степень пузырной гипертензии и выраженность воспалительных изменений в стенке желчного пузыря в наблюдаемых подгруппах были сопоставимы.

#### 4.4. Результаты обследования и лечения больных I (контрольной) подгруппы, которым выполнена «традиционная» холецистостомия с последующей термической мукоклазией желчного пузыря

На разных сроках госпитализации в динамике проанализированы данные общего и биохимического анализа крови, иммунограммы и скорость облитерации желчного пузыря.

Концентрация эритроцитов у пациентов I подгруппы снижалась на 1-е сутки после оперативного вмешательства ( $p < 0,05$ ) и возрастала к 5-м суткам после него. В соответствии с изменениями концентрации эритроцитов, наблюдалось падение концентрации гемоглобина на 1-е сутки после операции и возвращение к исходному уровню на 5-е сутки после него (таблица 25).

Таблица 25 – Концентрация эритроцитов и гемоглобина у пациентов, которым выполнена «традиционная» холецистостомия с последующей термической мукоклазией желчного пузыря

Сроки госпитализации	Эритроциты, количество клеток $\times 10^{12}$ на литр крови			Гемоглобин, г/л		
	До операции	1-е сутки после операции	5-е сутки после операции	До операции	1-е сутки после операции	5-е сутки после операции
I подгруппа (n = 14)	4,54 $\pm$ 0,15 <sup>1</sup>	4,43 $\pm$ 0,12 <sup>1,2</sup>	4,59 $\pm$ 0,09 <sup>1,2</sup>	140,14 $\pm$ 6,74	136,29 $\pm$ 4,39	139,43 $\pm$ 3,78

Примечание: 1; 2-  $p < 0,05$

Несмотря на наличие деструктивных форм холецистита, выраженного лейкоцитоза не наблюдалось, и значения лейкоцитов находились в пределах нормы (таблица 26). На 1-е сутки после операции отмечено некоторое увеличение концентрации лейкоцитов на 20% к дооперационному уровню, а к 5-м суткам концентрация лейкоцитов снижается и становится меньше дооперационных значений ( $p = 0,02$ ). Значительных колебаний в концентрации сегментоядерных

нейтрофилов (СЯН) не выявлено. Однако имеет место очевидный сдвиг влево на 1-е сутки после операции, когда повышается концентрация палочкоядерных нейтрофилов (ПЯН) и их умеренное снижение к 5-м. Такая же тенденция прослеживается и для концентрации эозинофилов и моноцитов. Следует отметить, что на 1-е сутки после операции увеличиваются практически все показатели лейкоцитарной формулы, за исключением лимфоцитов, процентное содержание которых снижается по сравнению с дооперационным уровнем и возвращается к исходному на 5-е сутки после операции. Описанная динамика лейкоформулы может быть следствием ответа организма на операционную травму и проведение термической мукоклазии.

Таблица 26 – Показатели лейкоцитарной формулы у пациентов, которым выполнена «традиционная» холецистостомия с последующей термической мукоклазией желчного пузыря

Показатель	Среднее значение (M) ± средняя ошибка средней арифметической (m)		
	I подгруппа (n = 14)		
	До операции	1-е сут. после операции	5-е сут. после операции
Лейкоциты, $\times 10^9 / \text{л}$	8,00±1,07	10,06±1,18 <sup>1</sup>	7,41±1,21 <sup>1</sup>
СЯН, %	66,00±3,79	66,00±4,23	65,71±3,79
ПЯН, %	2,43±0,40	3,57±1,08	3,04±0,88
Эоз, %	1,14±0,44	1,57±0,52	1,00±0,41
Мон, %	3,57±0,52	3,86±1,14	3,71±0,96
ЛФ, %	26,86±3,24	24,86±4,35	27,14±3,42

Примечание: СЯН-сегментоядерные нейтрофилы, ПЯН-палочкоядерные нейтрофилы, Эоз-эозинофилы, Мон-моноциты, ЛФ-лимфоциты. Для лейкоцитов указана концентрация  $\times 10^9$  на литр крови. 1-  $p=0,02$ ;

Достоверных изменений биохимических показателей крови не наблюдалось, за исключением увеличения концентрации АСТ и АЛТ к 1-м суткам после мукоклазии желчного пузыря и их снижение к 5-м (таблица 27).

При изучении клеточного иммунитета было установлено, что у пациентов I подгруппы после операции происходит падение концентрации лимфоцитов ( $p=0,03$ ). Уменьшается абсолютная концентрация следующих показателей: CD3+(Т-лимфоциты) на 23,0% ( $p=0,003$ ); CD3+CD4+ (Т-хелперы) на 44,4% ( $p=0,006$ ); CD3+CD8+ (Т-ЦТЛ) на 44,0% ( $p=0,01$ ); CD3-CD19+(В-лимфоциты) на 50,0% ( $p=0,05$ ); CD3-CD16+CD56+ (NK) 48,1% ( $p=0,04$ ); CD3-HLA-DR+ (активированные NK) 45,0% ( $p=0,02$ ). Достоверной разницы в изменениях концентрации CD3-CD19-(0-лимфоциты) и CD3-HLA-DR+(зрелые, активированные лимфоциты) не получено.

Фагоцитарный показатель после операции в этой подгруппе уменьшается на 11,6% ( $p=0,04$ ), КАФ (количество активных фагоцитов) падает на 25,4% ( $p=0,05$ ). Однако достоверных изменений фагоцитарного числа и фагоцитарной ёмкости до операции и на 7-е сутки после неё не выявлено. Значимых изменений в концентрации основных классов иммуноглобулинов в I подгруппе не наблюдалось.

Таблица 27 – Биохимические показатели крови у пациентов, которым выполнена «традиционная» холецистостомия с последующей термической мукоклазией желчного пузыря

Параметр	Среднее значение (M) ± средняя ошибка средней арифметической (m)		
	I подгруппа (n = 14)		
	До операции	1-е сутки после операции	5-е сутки после операции
Общий белок, г/литр	68,54±1,30	67,49±2,47	69,13±1,95
Мочевина, ммоль/литр	6,03±0,65	6,54±0,93	7,00±0,87
Билирубин, мкмоль/литр	13,19±0,81	14,51±0,56	14,20±0,85
АСТ, ед/литр	45,46±13,24	46,44±10,81	43,77±9,87
АЛТ, ед/литр	78,01±45,33	74,09±37,52	60,90±19,58
Амилаза, ед/литр	99,46±49,44	89,77±25,71	69,00±16,93

Таблица 28 – Показатели иммунного статуса у пациентов, которым выполнена «традиционная» холецистостомия с последующей термической мукоклазией желчного пузыря

ПОКАЗАТЕЛЬ	Среднее значение (M)±Средняя ошибка средней арифметической (m)	
	I подгруппа (n = 14)	
	До операции	7-е сутки после операции
лимфоциты %	27,00±3,64	22,71±3,55
CD3+(Т-лимфоциты) %	61,04±1,95	53,44±2,33
CD3+CD4+ (Т-хелперы)%	40,74±5,60	33,56±3,21
CD3+CD8+ (Т-ЦТЛ) %	24,89±4,29	17,47±2,58
CD3-CD19+(В-лимфоциты)%	11,30±0,96	12,17±3,84
CD3-CD16+CD56+ (NK) %	11,67±2,02	8,67±2,71
CD3+CD16+CD56+ (Т-NK) %	9,11±2,27	8,72±2,32
ИРИ CD3+CD4/CD3+CD8+ %	2,07±0,44	2,17±0,32
CD3-CD19-(0-лимфоциты) %	18,00±4,67	25,40±4,36
CD3+HLA-DR+(зрелые, активированные лимфоциты)	6,00±1,45	5,29±0,90
CD3-HLA-DR+ (активированные NK)%	11,14±1,14	7,74±1,12
лейкоциты абс.	7,87±1,09	7,49±1,02
лимфоциты абс.	2,00±0,14 <sup>1</sup>	1,54±0,23 <sup>1</sup>
CD3+(Т-лимфоциты) абс.	1,35±0,16 <sup>2</sup>	0,78±0,11 <sup>2</sup>
CD3+CD4+ (Т-хелперы)абс.	0,90±0,12 <sup>3</sup>	0,50±0,08 <sup>3</sup>
CD3+CD8+ (Т-ЦТЛ) абс	0,50±0,09 <sup>4</sup>	0,28±0,05 <sup>4</sup>
CD3-CD19+(В-лимфоциты)абс.	0,32±0,09 <sup>5</sup>	0,16±0,04 <sup>5</sup>
CD3-CD16+CD56+ (NK) абс	0,27±0,04	0,14±0,06
CD3-CD19-(0-лимфоциты) абс.	0,48±0,11	0,42±0,12
CD3+HLA-DR+(зрелые, активированные лимфоциты) абс.	0,10±0,02	0,08±0,02
CD3-HLA-DR+ (активированные NK)абс.	0,20±0,03	0,11±0,03
Фагоцитарный показатель	73,86±3,13 <sup>6</sup>	65,29±4,00 <sup>6</sup>
Фагоцитарное число	5,53±0,33	4,96±0,36
КАФ (количество активных фагоцитов)	4,59±0,90 <sup>7</sup>	3,42±0,87 <sup>7</sup>
Фагоцитарная емкость крови	32,41±6,72	24,67±4,41
Ig G	11,21±1,18	9,77±1,18
Ig A	2,04±0,30	1,89±0,42
Ig M	0,94±0,05	0,96±0,08
Ig E	86,29±13,31	83,71±14,31

Примечание: Абс.-абсолютное значение; 1- p=0,03; 2- p=0,003; 3-p=0,006; 4- p=0,01; 5- p=0,05; 6- p=0,04; 7- p=0,05.

Таким образом, у пациентов I подгруппы, которым выполнена «традиционная» холецистостомия с последующей термической мукоклазией желчного пузыря, после операции наблюдается угнетение иммунитета, главным образом, за счет клеточного звена, выражающееся в достоверном уменьшении абсолютного и относительного количества субпопуляций лимфоцитов. Зарегистрированы и нарушения в системе фагоцитоза.

Облитерация полости желчного пузыря у этих больных происходила на  $21,17 \pm 0,22$  сутки после проведения термической мукоклазии. Летальных исходов не было.

Таким образом, выявленные изменения в системе иммунитета предполагают их коррекцию у пациентов старших возрастных групп с помощью иммуномодуляторов.

Клинический пример №2.

Больная В., 63 лет поступила в КГКБ № 4 спустя 2 суток от начала заболевания, с жалобами на боли в правом подреберье, тошноту, горечь во рту, повышение температуры тела до  $37,5^{\circ}\text{C}$ .

Общее состояние средней степени тяжести. Кожные покровы бледно-розовые. В легких дыхание везикулярное, на высоте вдоха выслушиваются единичные сухие хрипы, ЧДД - 19 в мин. Тоны сердца приглушены, ритм правильный, ЧСС - 78 уд. в мин. Живот не вздут, в правом подреберье и эпигастрии умеренная мышечная защита, симптомы раздражения брюшины отрицательные, симптомы Орнтера, Кера, Калька, Мюсси-Георгиевского-положительные.

Общий анализ крови (при поступлении): эритроциты -  $4,71 \times 10^{12}/\text{л}$ ; гемоглобин - 148 г/л; лейкоциты -  $9,8 \times 10^9/\text{л}$ . Биохимический анализ крови (при поступлении): общий белок - 70 г/л; общий билирубин - 16,5 мкмоль/л; мочевины - 7,0 ммоль/л; креатинин - 112,8 мкмоль/л; АСТ - 99,3 ед/литр; АЛТ - 103,2 ед/литр; амилаза - 135,5 ед/литр; глюкоза - 8,5 ммоль/л.

Рентгенография органов грудной клетки: на рентгенограмме органов грудной клетки картина пневмосклероза, сердце расширено за счет правых и левых отделов, аорта уплотнена.

ФГДС: Эрозивный проксимальный дуоденит, дуодено-гастральный рефлюкс, хронический гастрит.

ЭКГ: Ритм синусовый, ЧСС-67 ударов в минуту, неполная блокада правой ножки пучка Гиса, ЭОС отклонена влево.

УЗИ (заключение): Толщина брюшной стенки в области правого подреберья составляет 4,5 см. Печень не увеличена в размерах, плотная, среднезернистая, без признаков внутрипротоковой гипертензии. Желчный пузырь размерами 12,0 x 5,1 см, толщина стенки 4 мм, в просвете до 5 конкрементов, один из них области шейки размерами до 1,8 см (рисунок 36).

Больная проконсультирована терапевтом и анестезиологом.

Клинический диагноз: ЖКБ. Острый калькулезный деструктивный холецистит. ГБ II ст. медикаментозно достигнутая II ст. ГМЛЖ, риск 4. ХСН ПА ФК II. Сахарный диабет 2 тип, стадия субкомпенсации. Последствия ОНМК в 2007 г. Хронический атрофический гастрит.



Рисунок 36 – Ультрасонограмма больной В. при поступлении. Стрелкой указан увеличенный в размерах, напряженный желчный, содержащий в своем просвете множественные разнокалиберные конкременты, один из них в шейке.

Таблица 29 – Иммунограмма больной В. при поступлении (контрольная подгруппа)

Показатель	Абсолютное значение, ( $\times 10^9$ / л)	Относительное значение, (%)
Лейкоциты	5,0	
Лимфоциты	1,92	38,40
CD3+(Т-лимфоциты)	1,05	54,69
CD3+CD4+(Т-хелперы)	0,27	14,06
CD3+CD8+(Т-ЦТЛ)	0,09	4,69
CD3-CD19+(В-лимфоциты)	0,10	5,21
CD3-CD16+CD56+(NK)	0,10	5,21
CD3+CD16+CD56+	0,09	4,69
ИРИ (CD3+CD4/CD3+CD8+)	2,94	
CD3-CD19-(0-лимфоциты)	0,08	4,17
CD3+HLA-DR+ (зрелые, активированные Т-лимфоциты)	0,05	2,6
CD3-HLA-DR+(активированные NK)	0,09	4,69
<b>Фагоцитоз</b>		
Фагоцитарный показатель	75	
Фагоцитарное число	4,48	
КАФ (количество активных фагоцитов)	2,36	
Фагоцитарная емкость крови	14,11	
<b>Иммуноглобулины</b>		
IgG, г/л	12,4	
Ig A, г/л	2,1	
Ig M, г/л	0,8	
Ig E, г/л	98,1	

Сумма баллов - 45. Больной показана «традиционная» холецистостомия, литоэкстракция и термическая мукоклазия желчного пузыря, которые были выполнены по методике, разработанной на кафедре хирургических болезней № 2.

Операция - «традиционная» холецистостомия, литоэкстракция, термическая мукоклазия желчного пузыря. В точке наиболее близкого прилегания дна желчного пузыря к передней брюшной стенке произведена анестезия тканей (Sol. Novocaini 0,25% - 60,0 мл). Выполнен разрез кожи длиной 5,0 см. Обнажено дно

желчного пузыря с признаками флегмонозного воспаления. На дно наложен кисет, вскрыта полость пузыря. Проведена санация полости желчного пузыря, литоэкстракция. Удалено 5 конкрементов. Выполнено контрастное исследование желчных протоков. Конкрементов в желчных протоках не обнаружено, контрастное вещество свободно поступает в двенадцатиперстную кишку. Далее в полость желчного пузыря введен катетер с латексным баллоном на конце. Под контролем рентгеноскопии баллон заполнен разведенным рентгенконтрастным раствором, нагретым до  $65^{\circ}\text{C}$ , до плотного соприкосновения со стенками желчного пузыря. Время экспозиции 7 минут. Раствор аспирирован, латексный баллон удален. С целью контроля эффективности мукоклазии, полость желчного пузыря под визуальным контролем эндоскопа орошена 1% раствором метиленовой сини с экспозицией 5 минут. После смывания красителя физиологическим раствором слизистая во всех отделах окрашена в синий цвет. Непрокрашенных участков нет. Произведена аспирация остатков физиологического раствора. В полость желчного пузыря установлен дренаж. Асептическая повязка.

На 8-е сутки после операции из полости желчного пузыря скудное серозно-геморрагическое отделяемое, дренаж удален. Через 13 суток больная в удовлетворительном состоянии после УЗИ-контроля выписана из стационара под наблюдение хирурга по месту жительства. Рекомендовано явиться через 10 суток для контрольного осмотра. При контрольном осмотре состояние больной удовлетворительное. По данным УЗИ на 22-е сутки после демукотизации полость желчного пузыря не определяется, в проекции желчного пузыря лоцируется гиперэхогенная рубцовая ткань (рисунок 37).

Таблица 30 – Иммунограмма больной В. на 7-е сутки после операции (контрольная подгруппа)

Показатель	Абсолютное значение, (х 10 <sup>9</sup> / л)	Относительное значение, (%)
Лейкоциты	5,2	
Лимфоциты	0,99	19,04
CD3+(Т-лимфоциты)	0,41	41,41
CD3+CD4+(Т-хелперы)	0,18	18,18
CD3+CD8+(Т-ЦТЛ)	0,08	8,08
CD3-CD19+(В-лимфоциты)	0,03	3,03
CD3-CD16+CD56+(NK)	0,04	4,04
CD3+CD16+CD56+	0,08	8,08
ИРИ (CD3+CD4/CD3+CD8+)	2,25	
CD3-CD19-(0-лимфоциты)	0,08	8,08
CD3+HLA-DR+(зрелые, активированные Т-лимфоциты)	0,03	3,03
CD3-HLA-DR+(активированные NK)	0,06	6,06
<b>Фагоцитоз</b>		
Фагоцитарный показатель		55
Фагоцитарное число		4,1
КАФ (количество активных фагоцитов)		1,12
Фагоцитарная емкость крови		10,1
<b>Иммуноглобулины</b>		
IgG, г/л		8,8
Ig A, г/л		3,1
Ig M, г/л		1,1
Ig E, г/л		103,5

После операции происходит угнетение иммунитета главным образом за счет клеточного звена, также происходит падение показателей фагоцитоза.

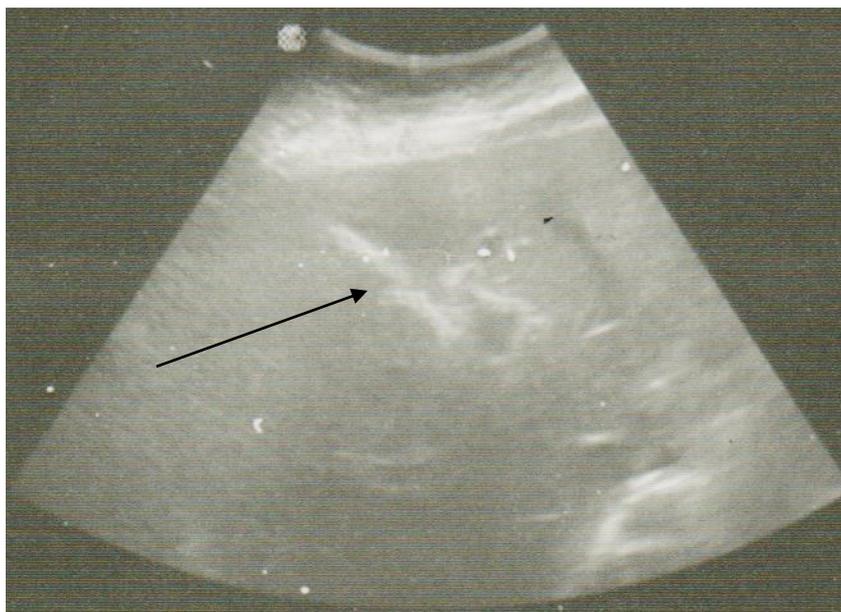


Рисунок 37 – Ультрасонограмма больной В. на 22 сутки после «традиционной» холецистостомии, литоэкстракции, термической мукоклазии желчного пузыря. Стрелкой указан желчный пузырь, представленный бесполостным гиперэхогенным образованием.

#### **4.5. Результаты лечения больных II (основной) подгруппы, которым выполнена «традиционная» холецистостомия с последующей термической мукоклазией желчного пузыря и вводился иммуномодулятор Ронколейкин.**

На разных сроках госпитализации анализировали показатели общего и биохимического анализа крови, показатели иммунного статуса, а также скорость облитерации полости желчного пузыря.

Концентрация эритроцитов у пациентов II подгруппы снижается на 1-е сутки после операции и возрастает к 5-м суткам, не достигая первоначального уровня. Аналогичные изменения наблюдаются и для динамики концентрации гемоглобина (таблица 31).

Концентрация лейкоцитов до оперативного вмешательства превышала нормальные значения на 10,22%. На 1-е сутки после операции наблюдался рост концентрации лейкоцитов на 17,53%. К 5-м суткам концентрация лейкоцитов достоверно снижалась ( $p=0,01$ ) и была ниже дооперационного уровня (таблица 32).

Таблица 31 – Концентрация эритроцитов и гемоглобина у пациентов, которым выполнена «традиционная» холецистостомия с последующей термической мукоклазией желчного пузыря и вводился иммуномодулятор Ронколейкин

Сроки госпитализации	Эритроциты, количество клеток $\times 10^{12}$ на литр крови			Гемоглобин, г/л		
	До операции	1-е сутки после операции	5-е сутки после операции	До операции	1-е сутки после операции	5-е сутки после операции
II подгруппа (n = 12)	4,61± 0,16	4,32± 0,21	4,45± 0,19	141,50±6, 14	136,00± 6,03	139,50± 6,44

Значимых изменений концентрации сегментоядерных нейтрофилов не выявлено. Тем не менее, концентрация палочкоядерных нейтрофилов растёт на 1-е сутки после операции и снижается на 5-е сутки после неё. Концентрация эозинофилов снижается на 1-е сутки после операции и умеренно возрастает на 5-й день. Содержание моноцитов на 1-е сутки после операции увеличивается на 30,0% и незначительно снижается к 5-му дню. После операции концентрация лимфоцитов ( $p=0,03$ ) снижается. К 5-м суткам происходит достоверный ( $p=0,004$ ) рост этого показателя на 47,8%.

Изменения лейкоцитарной формулы можно коротко суммировать следующим образом. На 1-е сутки после операции растёт концентрация лейкоцитов. Возрастает содержание палочкоядерных нейтрофилов и моноцитов. На этом фоне снижается концентрация сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов. На 5-е сутки после операции происходит нормализация лейкоцитарной формулы. Снижаются все её показатели, кроме лимфоцитов. Их концентрация на 5-е сутки увеличивается (таблица 32).

Таблица 32 – Показатели лейкоцитарной формулы у пациентов, которым выполнена «традиционная» холецистостомия с последующей термической мукоклазией желчного пузыря и вводился иммуномодулятор Ронколейкин

Показатель	Среднее значение (M) ± средняя ошибка средней арифметической (m)		
	II подгруппа (n = 12)		
	До операции	1-е сут. после операции	5-е сут. после операции
Лейкоциты, $\times 10^9/л$	11,22±1,52 <sup>1</sup>	13,63±3,53	8,97±1,10 <sup>1</sup>
СЯН, %	75,00±3,51	73,67±2,48	69,50±2,45
ПЯН, %	4,33±0,97	6,17±3,77	4,50±1,46
Эоз, %	0,67±0,23	0,33±0,23	0,50±0,55
Мон, %	3,33±0,54	4,33±0,67	4,17±0,44
ЛФ, %	18,17±3,18 <sup>2;3</sup>	15,00±3,01 <sup>2</sup>	22,17±1,07 <sup>3</sup>

Примечание: 1- p=0,01; 2- p=0,03; 3- p=0,004.

Из биохимических изменений можно отметить снижение концентрации общего белка, билирубина и АСТ на 1-е сутки после операции и повышение мочевины, АЛТ и амилазы. На 5-е сутки после мукоклазии желчного пузыря происходило заметное снижение уровня билирубина, АЛТ и амилазы (таблица 33).

При изучении иммунного статуса после операции отмечено достоверное увеличение относительного (в 1,8 раза, p=0,001) и абсолютного (в 1,23 раза, p=0,008) содержания лимфоцитов на фоне снижения общей концентрации лейкоцитов (p=0,01). Абсолютная концентрация CD3+(Т-лимфоцитов) после оперативного вмешательства у пациентов II подгруппы возрастает на 25,9% по сравнению с дооперационным уровнем (p=0,03). Содержание CD3+CD4+ (Т-хелперы) после операции достоверно (p=0,05) увеличивается на 21,3%. Повышается абсолютная концентрация CD3-CD19+(В-лимфоцитов) на 23,5% по сравнению с дооперационным уровнем. Уровень CD3-CD16+CD56+ (NK) значительно не изменялся (таблица 34).

Таблица 33 – Биохимические показатели крови у пациентов, которым выполнена «традиционная» холецистостомия с последующей термической мукоклазией желчного пузыря и вводился иммуномодулятор Ронколейкин

Параметр	Среднее значение (M) ± средняя ошибка средней арифметической (m)		
	II подгруппа (n = 12)		
	До операции	1-е сутки после операции	5-е сутки после операции
Общий белок, г/литр	73,62±1,33	71,27±1,64	71,20±2,08
Мочевина, ммоль/литр	6,55±0,52	7,07±0,35	6,95±0,52
Билирубин, мкмоль/литр	24,42±6,34	20,03±3,17	14,87±1,83
АСТ, ед/литр	62,90±10,89	59,50±23,40	51,88±14,68
АЛТ, ед/литр	65,57±15,40	112,68±79,16	54,53±19,94
Амилаза, ед/литр	129,20±16,81	133,00±39,87	73,55±13,07

Уменьшается содержание CD3-CD19-(0-лимфоциты), в то время как концентрация CD3+HLA-DR+(зрелых, активированных лимфоцитов) и CD3-HLA-DR+ (активированных NK) возрастает. Отмечается достоверный ( $p=0,02$ ) рост фагоцитарного показателя и фагоцитарного числа ( $p=0,002$ ), возрастает и фагоцитарная емкость крови ( $p=0,05$ ). На фоне применения Ронколейкина возрастает концентрация иммуноглобулинов основных классов, в наибольшей степени увеличивается концентрация Ig M и Ig E (таблица 34).

Из таблицы 34 следует, что Ронколейкин достоверно увеличивает показатели иммунного статуса пациентов II подгруппы. Более того, у пациентов основной подгруппы на фоне применения Ронколейкина наблюдалась тенденция к более быстрой облитерации полости желчного пузыря, которая происходила на  $17,12\pm 0,16$  суткам после проведения термической мукоклазии.

Клинический пример № 3 (основная подгруппа).

Больная Н., 70 лет поступила в КГКБ № 4 спустя 3 суток от начала заболевания, с жалобами на боли в правом подреберье, тошноту, горечь во рту, повышение температуры тела до субфебрильных цифр.

Общее состояние средней степени тяжести. Кожный покров обычной окраски. В легких дыхание везикулярное, на высоте вдоха выслушиваются единичные сухие хрипы, ЧДД - 21 в мин. Тоны сердца приглушены, ритм правильный, ЧСС - 80 уд. в мин. Живот не вздут, в правом подреберье и эпигастрии мышечная защита, симптомы раздражения брюшины в правом подреберье сомнительные, симптомы Ортнера, Кера, Калька, Мюсси-Георгиевского-положительные.

Общий анализ крови (при поступлении): эритроциты -  $5,1 \times 10^{12}/л$ ; гемоглобин - 161 г/л; лейкоциты -  $10,0 \times 10^9/л$ , ПЯН – 1%, СЯН – 77%, лимфоциты – 20%, эозинофилы – 0%, моноциты – 2%. Биохимический анализ крови (при поступлении): общий белок - 76,0 г/л; общий билирубин - 25,5 мкмоль/л; мочевины - 7,7 ммоль/л; креатинин - 87,66 мкмоль/л; глюкоза - 9,2 ммоль/л; амилаза - 154,2 ед/литр, АСТ - 95,3 ед/литр; АЛТ - 86,43 ед/литр.

УЗИ (заключение): Толщина передней брюшной стенки в области правого подреберья составляет 5,1 см. Печень не увеличена в размерах, плотная, среднезернистая, без признаков внутрипротоковой гипертензии. Желчный пузырь напряжен, размерами 12,5 x 4,6 см, толщина стенки 4 - 5 мм, в просвете множество конкрементов, размерами до 1,5 см (рисунок 38).

Рентгенография органов грудной клетки: на рентгенограмме органов грудной клетки легкие и сердце возрастного вида.

Таблица 34 – Показатели иммунного статуса пациентов II подгруппы

ПОКАЗАТЕЛЬ	Среднее значение (M) ± Средняя ошибка средней арифметической (m)	
	II подгруппа (n = 12)	
	До операции	7-е сутки после операции
лимфоциты %	15,33±3,02	27,67±1,08
CD3+(Т-лимфоциты) %	58,15±2,22	76,05±2,50
CD3+CD4+ (Т-хелперы)%	39,25±4,01	46,57±3,07
CD3+CD8+ (Т-ЦТЛ) %	24,47±2,25	27,15±2,65
CD3-CD19+(В-лимфоциты)%	7,75±1,63	9,95±1,73
CD3-CD16+CD56+ (NK) %	12,25±0,81	12,68±1,85
CD3+CD16+CD56+ (Т-NK) %	12,45±2,70	14,05±1,02
ИРИ CD3+CD4/CD3+CD8+ %	0,91±0,04	1,71±0,20
CD3-CD19-(0-лимфоциты) %	19,33±1,84	15,05±3,35
CD3+HLA-DR+(зрелые, активированные лимфоциты)	7,83±2,45	13,73±1,07
CD3-HLA-DR+ (активированные NK)%	7,47±0,64	10,98±1,65
лейкоциты абс.	10,70±1,13 <sup>2</sup>	7,47±0,63 <sup>2</sup>
лимфоциты абс.	1,49±0,20 <sup>1</sup>	1,84±0,22 <sup>1</sup>
CD3+(Т-лимфоциты) абс.	1,00±0,06 <sup>3</sup>	1,35±0,17 <sup>3</sup>
CD3+CD4+ (Т-хелперы)абс.	0,59±0,03 <sup>4</sup>	0,75±0,08 <sup>4</sup>
CD3+CD8+ (Т-ЦТЛ) абс	0,37±0,05	0,54±0,10
CD3-CD19+(В-лимфоциты)абс.	0,13±0,04	0,17±0,04
CD3-CD16+CD56+ (NK) абс	0,20±0,03	0,19±0,04
CD3-CD19-(0-лимфоциты) абс.	0,25±0,03	0,19±0,04
CD3+HLA-DR+(зрелые, активированные лимфоциты) абс.	0,13±0,05	0,19±0,02
CD3-HLA-DR+ (активированные NK)абс.	0,26±0,13	0,29±0,05
Фагоцитарный показатель	74,17±4,26 <sup>5</sup>	85,83±3,65 <sup>5</sup>
Фагоцитарное число	4,15±0,49 <sup>6</sup>	6,68±0,48 <sup>6</sup>
КАФ (количество активных фагоцитов)	4,70±0,78	4,29±0,36
Фагоцитарная емкость крови	24,21±2,41	29,22±2,34
Ig G	13,05±3,10	18,50±4,64
Ig A	2,29±0,47	3,32±0,59
Ig M	1,73±0,58	2,57±0,48
Ig E	104,00±37,60	177,33±44,45

Примечание: 1- p=0,008; 2-p=0,01; 3-p=0,03; 4- p=0,05; 5- p=0,02; 6- p=0,002

ФГДС (заключение): Хронический атрофический гастрит, дуодено-гастральный рефлюкс.

ЭКГ (расшифровка): Ритм синусовый, ЧСС-74 удара в минуту, метаболические нарушения в миокарде, ГМЛЖ.

Консультирована терапевтом и анестезиологом.

Клинический диагноз: ЖКБ. Острый флегмонозный холецистит. Паравезикальный инфильтрат. ГБ III ст. II ст. ГМЛЖ, риск 4. ХСН IIА ФК II. Сахарный диабет 2 тип, стадия субкомпенсации. ИБС: стабильная стенокардия напряжения ФК 3. Хронический гастрит, парапапиллярный дивертикул.

Общая сумма баллов по разработанной шкале менее 48, больной показана «традиционная» холецистостомия, литоэкстракция и термическая мукоклазия желчного пузыря.

Операция - «традиционная» холецистостомия, литоэкстракция, термическая мукоклазия желчного пузыря. В точке наиболее близкого прилегания дна желчного пузыря к передней брюшной стенке произведена анестезия тканей (sol. Novocaini 0,25%-60,0 мл). Выполнен разрез кожи длиной 5,0 см. Обнажено дно желчного пузыря. Имеются признаки флегмонозного воспаления. На дно наложен кисет вскрыта полость пузыря. Проведена санация полости желчного пузыря, литоэкстракция (удалено множество разнокалиберных конкрементов, диаметром от 0,5 до 2,0 см).

Выполнено контрастное исследование желчных протоков. Конкрементов в желчных путях не обнаружено, контрастное вещество свободно поступает в двенадцатиперстную кишку. Далее в полость желчного пузыря введен катетер с латексным баллоном на конце. Под контролем рентгеноскопии баллон заполнен разведенным рентгенконтрастным раствором, нагретым до 65<sup>0</sup>С, до плотного соприкосновения со стенками желчного пузыря. Время экспозиции 7 минут. Раствор аспирирован, латексный баллон удален. Контроль эффективности мукоклазии полости желчного пузыря, под визуальным контролем эндоскопа, орошена 1% раствором метиленовой сини с экспозицией 5 минут.

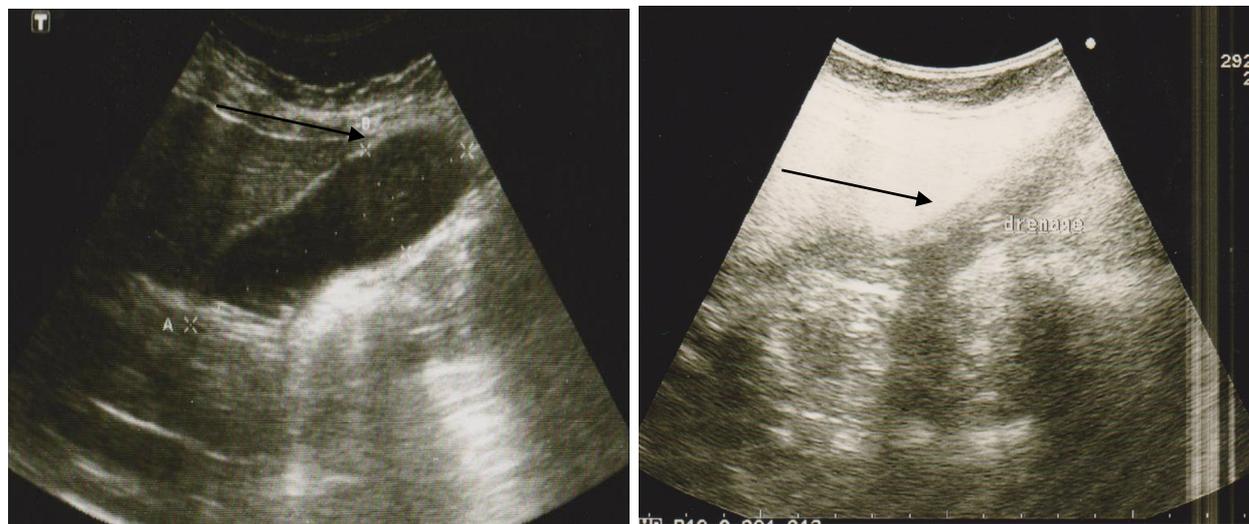
Таблица 35 – Иммунограмма больной Н. при поступлении (основная подгруппа)

Показатель	Абсолютное значение, (х 10 <sup>9</sup> / л)	Относительное значение, (%)
Лейкоциты	10,0	
Лимфоциты	1,09	10,9
CD3+(Т-лимфоциты)	0,51	46,79
CD3+CD4+(Т-хелперы)	0,15	13,76
CD3+CD8+(Т-ЦТЛ)	0,07	6,42
CD3-CD19+(В-лимфоциты)	0,06	5,5
CD3-CD16+CD56+(NK)	0,07	6,42
CD3+CD16+CD56+	0,05	4,59
ИРИ (CD3+CD4/CD3+CD8+)	2,14	
CD3-CD19-(0-лимфоциты)	0,06	5,5
CD3+HLA-DR+ (зрелые, активированные Т-лимфоциты)	0,07	6,42
CD3-HLA-DR+ (активированные NK)	0,05	4,59
<b>Фагоцитоз</b>		
Фагоцитарный показатель		86
Фагоцитарное число		4,8
КАФ (количество активных фагоцитов)		3,70
Фагоцитарная емкость крови		25,86
<b>Иммуноглобулины</b>		
IgG, г/л		6,3
Ig A, г/л		1,2
Ig M, г/л		0,87
Ig E, г/л		99,4

После смывания красителя физиологическим раствором слизистая во всех отделах окрашена в синий цвет. Непрокрашенных участков нет. Произведена аспирация остатков физиологического раствора. В полость желчного пузыря установлен дренаж. Асептическая повязка.

На 7-е сутки после термической мукоклазии по холецистостоме скудное серозное отделяемое, дренаж удален. На 10-е сутки после операции больная выписана в удовлетворительном состоянии. Даны рекомендации, явка через 1 неделю для контрольного осмотра.

При контрольном осмотре самочувствие больной удовлетворительное. По данным УЗИ после демукотизации полость желчного пузыря не определяется, в проекции желчного пузыря визуализируется гиперэхогенная структура - соединительнотканый тяж (рисунок 39).



А

Б

Рисунок 38 – (А) Ультрасонограмма больной Н. при поступлении. Стрелкой указан увеличенный желчный пузырь, размеры 125 x 46 мм, толщина стенки 4 - 5 мм. (Б) Ультрасонограмма той же больной на 11-е сутки после термической мукоклазии желчного пузыря на фоне применения Ронколейкина по схеме. Стрелкой указана полость желчного пузыря, которая значительно уменьшена в размерах - 55 x 7 мм, стенка желчного пузыря гиперэхогенная, утолщенная до 8 - 10 мм.

Таблица 36 – Иммунограмма больной Н. на 7-е сутки после операции (основная подгруппа)

Показатель	Абсолютное значение, (x 10 <sup>9</sup> / л)	Относительное значение, (%)
Лейкоциты	8,3	
Лимфоциты	2,36	28,43
CD3+(Т-лимфоциты)	1,12	47,46
CD3+CD4+(Т-хелперы)	0,43	18,22
CD3+CD8+(Т-ЦТЛ)	0,18	7,63
CD3-CD19+(В-лимфоциты)	0,12	5,08
CD3-CD16+CD56+(NK)	0,10	4,24
CD3+CD16+CD56+	0,11	4,66
ИРИ (CD3+CD4/CD3+CD8+)	2,38	
CD3-CD19-(0-лимфоциты)	0,08	3,39
CD3+HLA-DR+ (зрелые, активированные Т-лимфоциты)	0,10	4,24
CD3-HLA-DR+ (активированные NK)	0,12	5,08
<b>Фагоцитоз</b>		
Фагоцитарный показатель		93
Фагоцитарное число		5,6
КАФ (количество активных фагоцитов)		4,68
Фагоцитарная емкость крови		28,22
<b>Иммуноглобулины</b>		
IgG, г/л		9,6
Ig A, г/л		1,7
Ig M, г/л		1,4
Ig E, г/л		110

На фоне применения препарата Ронколейкин после «традиционной» холецистостомии с последующей термической мукоклазией желчного пузыря происходит увеличение абсолютного и относительного общего числа лимфоцитов и основных субпопуляций, а также увеличение показателей фагоцитоза.

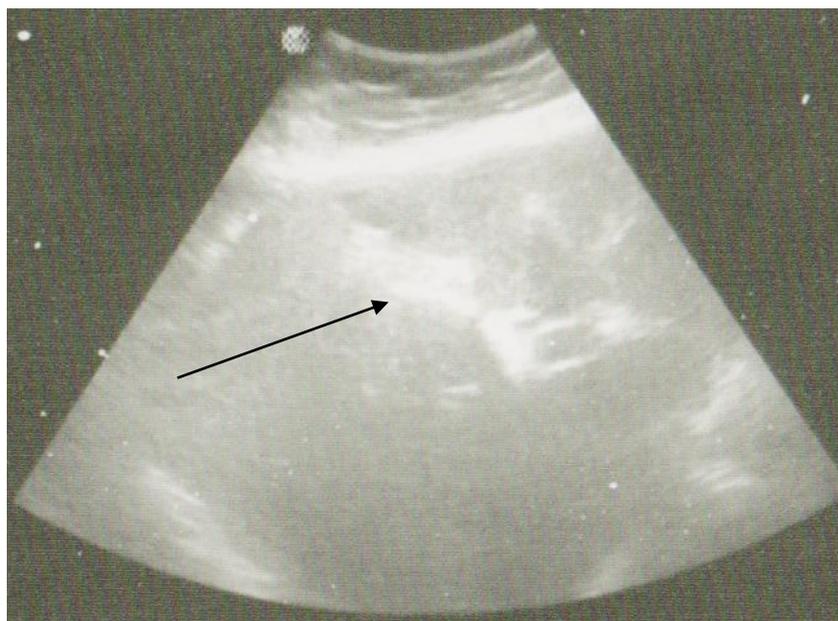


Рисунок 39 – Ультрасонограмма больной Н. на 17-е сутки после «традиционной» холецистостомии, литоэкстракции, термической мукоклазии желчного пузыря с применением в послеоперационном периоде препарата Ронколейкин по схеме. Стрелкой указан желчный пузырь, представленный бесполостным гиперэхогенным образованием.

Результаты лечения II (основной) подгруппы пациентов показали стимулирующее влияние Ронколейкина на иммунный статус наблюдаемых больных (таблица 37). Достоверно (на 24,16%,  $p=0,001$ ) увеличивалось абсолютное общее число лимфоцитов (рисунок 40). В контрольной группе без Ронколейкина этот показатель после операции, напротив, уменьшался на 23,0%. Это может быть связано с тем, что операционная травма без иммуотропной поддержки приводит к угнетению иммунной системы. Послеоперационный уровень CD3+T-лимфоцитов во II группе был достоверно (на 29,42%,  $p=0,004$ ) выше такового в I подгруппе (рисунок 41). Следует отметить, что тенденция к повышению наблюдалась для всех субпопуляций лимфоцитов на фоне применения Ронколейкина. Так, субпопуляция CD3+CD4+ Т-хелперов после оперативного вмешательства в основной группе на 27,87% больше, чем в контрольной ( $p=0,004$ ) (рисунок 42). Послеоперационная концентрация CD3+CD8+ (Т-цитотоксических

лимфоцитов) во II подгруппе на 36,65% выше, чем в I ( $p=0,008$ ). На фоне применения иммуномодулятора в основной подгруппе произошло повышение ИРИ ( $CD3+CD4/CD3+CD8+$ ) на 46,78% ( $p=0,007$ ), в то время как в контрольной подгруппе данный показатель увеличился лишь на 4,6%. Содержание  $CD3+HLA-DR+$  (зрелых, активированных лимфоцитов) и  $CD3-HLA-DR+$  активированных NK ( $p=0,008$  и  $p=0,04$  соответственно) выше в подгруппе, где применялся Ронколейкин. На субпопуляцию  $CD3-CD19+$  В-лимфоцитов влияние Ронколейкина было не столь значительно (рисунок 43).

Фагоцитарный показатель ( $p=0,0009$ ), фагоцитарное число ( $p=0,004$ ) и фагоцитарная емкость крови были выше у пациентов, которые получали Ронколейкин в послеоперационном периоде. На фоне применения этого иммуномодулятора происходило существенное повышение фагоцитарного показателя в основной группе на 13,58%, тогда как в контрольной подгруппе этот показатель снижался на 11,6% (рисунок 44).

У пациентов II подгруппы концентрация основных классов иммуноглобулинов после операции была выше чем у пациентов, не получавших Ронколейкин ( $p<0,02$ ) (таблица 37).

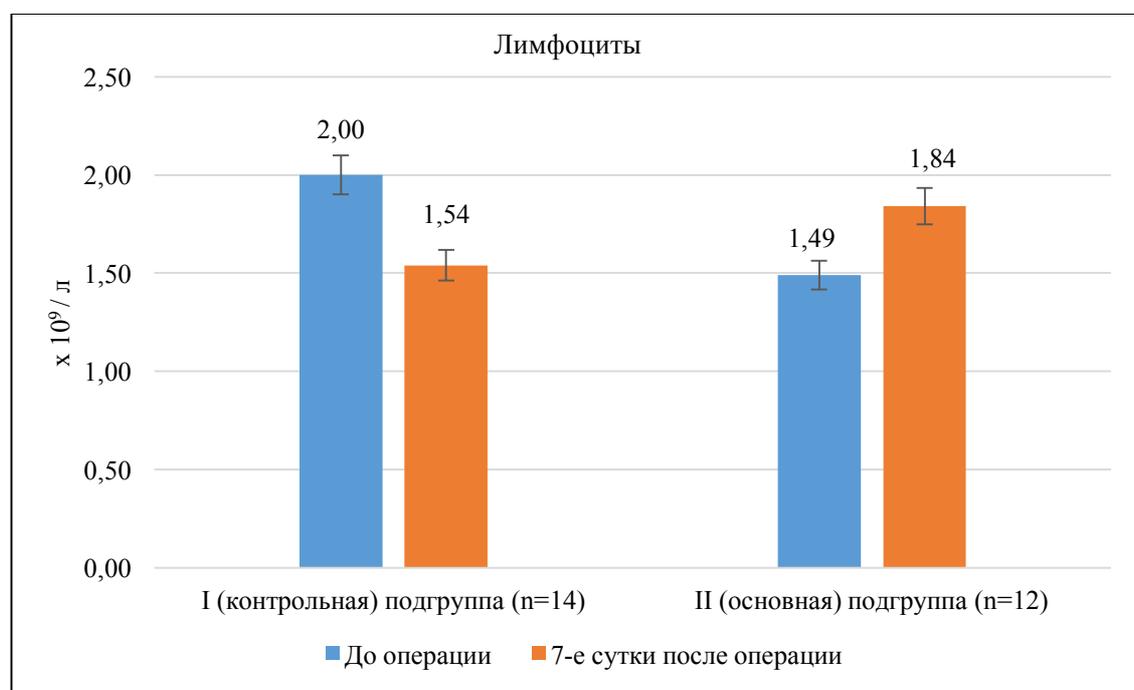


Рисунок 40 – Содержание лимфоцитов у пациентов на разных сроках госпитализации.

Таблица 37 – Показатели иммунограмм пациентов наблюдаемых подгрупп на 7-е сутки после оперативного вмешательства

ПОКАЗАТЕЛЬ	среднее значение (M)±Средняя ошибка средней арифметической (m)	
	7-е сутки после операции	
	I подгруппа (n = 14)	II подгруппа (n = 12)
лимфоциты %	22,71±3,55	27,67±1,08
CD3+(Т-лимфоциты) %	53,44±2,33	76,05±2,50
CD3+CD4+ (Т-хелперы)%	33,56±3,21	46,57±3,07
CD3+CD8+ (Т-ЦТЛ) %	17,47±2,58	27,15±2,65
CD3-CD19+(В-лимфоциты)%	12,17±3,84	9,95±1,73
CD3-CD16+CD56+ (NK) %	8,67±2,71	12,68±1,85
CD3+CD16+CD56+ (Т-NK) %	8,72±2,32	14,05±1,02
ИРИ CD3+CD4/CD3+CD8+ %	2,17±0,32	1,71±0,20
CD3-CD19-(0-лимфоциты) %	25,40±4,36	15,05±3,35
CD3+HLA-DR+(зрелые, активированные лимфоциты)	5,29±0,90	13,73±1,07
CD3-HLA-DR+ (активированные NK)%	7,74±1,12	10,98±1,65
лейкоциты абс.	7,49±1,02	7,47±0,63
лимфоциты абс.	1,54±0,23 <sup>1</sup>	1,84±0,22 <sup>1</sup>
CD3+(Т-лимфоциты) абс.	0,78±0,11 <sup>2</sup>	1,35±0,17 <sup>2</sup>
CD3+CD4+ (Т-хелперы)абс.	0,50±0,08	0,75±0,08
CD3+CD8+ (Т-ЦТЛ) абс	0,28±0,05	0,54±0,10
CD3-CD19+(В-лимфоциты)абс.	0,16±0,04	0,17±0,04
CD3-CD16+CD56+ (NK) абс	0,14±0,06	0,19±0,04
CD3-CD19-(0-лимфоциты) абс.	0,42±0,12	0,19±0,04
CD3+HLA-DR+(зрелые, активированные лимфоциты) абс.	0,08±0,02 <sup>3</sup>	0,19±0,02 <sup>3</sup>
CD3-HLA-DR+ (активированные NK)абс.	0,11±0,03 <sup>4</sup>	0,29±0,05 <sup>4</sup>
Фагоцитарный показатель	65,29±4,00 <sup>5</sup>	85,83±3,65 <sup>5</sup>
Фагоцитарное число	4,96±0,36 <sup>6</sup>	6,68±0,48 <sup>6</sup>
КАФ (количество активных фагоцитов)	3,42±0,87	4,29±0,36
Фагоцитарная емкость крови	24,67±4,41	29,22±2,34
Ig G	9,77±1,18 <sup>7</sup>	18,50±4,64 <sup>7</sup>
Ig A	1,89±0,42 <sup>7</sup>	3,32±0,59 <sup>7</sup>
Ig M	0,96±0,08 <sup>7</sup>	2,57±0,48 <sup>7</sup>
Ig E	83,71±14,31 <sup>7</sup>	177,33±44,45 <sup>7</sup>

Примечание: абс.-абсолютное значение ( $\times 10^9 / л$ ). 1-  $p=0,001$ ; 2-  $p=0,004$ ; 3-  $p=0,008$ ; 4-  $p=0,04$ ; 5-  $p=0,0009$ ; 6-  $p=0,004$ ; 7-  $p<0,02$ .

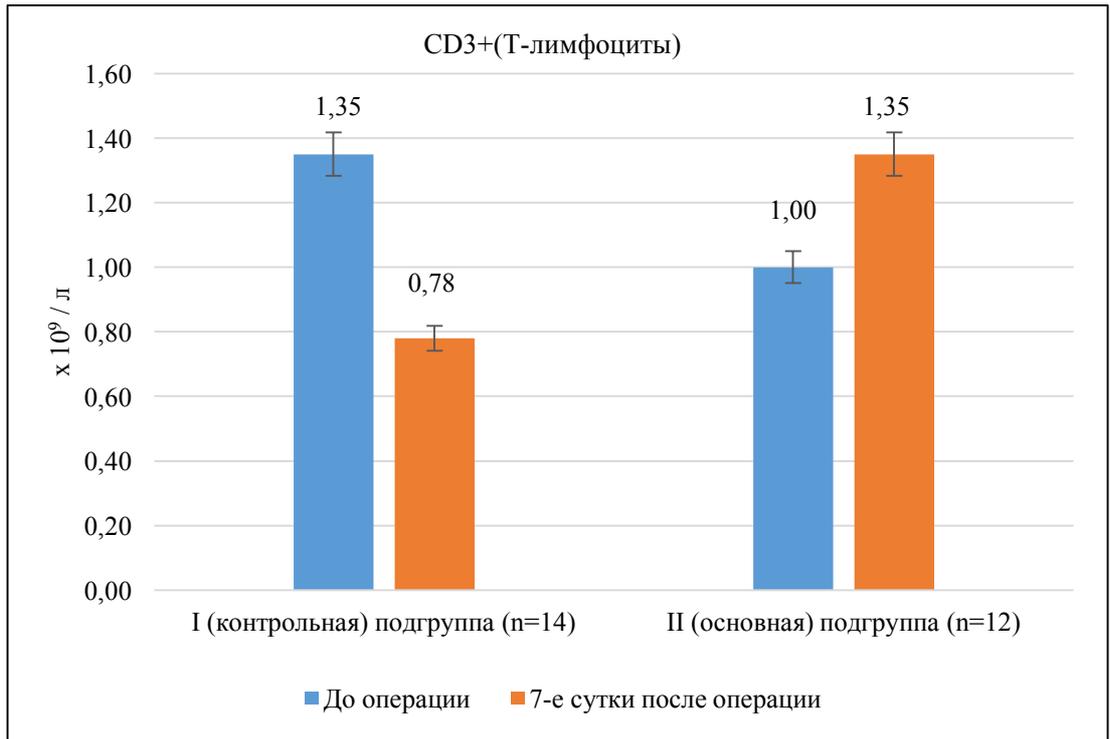


Рисунок 41 – Содержание CD3+(Т-лимфоциты) у пациентов на разных сроках госпитализации.

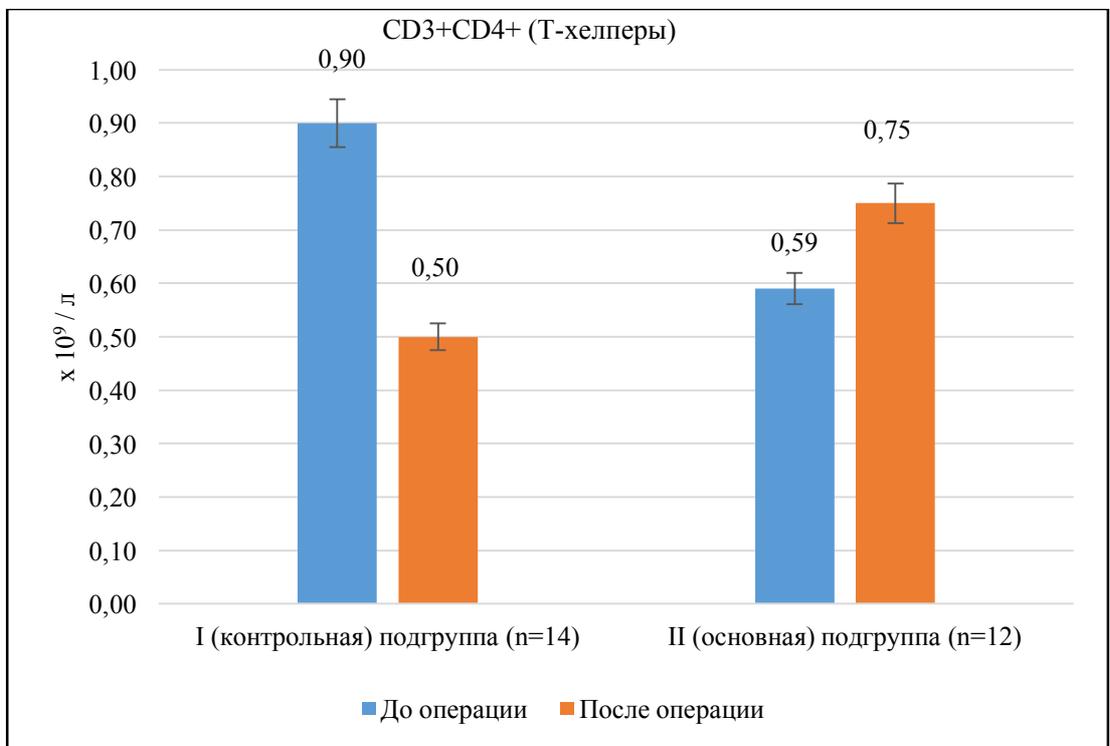


Рисунок 42 – Содержание CD3+CD4+ (Т-хелперы) у пациентов на разных сроках госпитализации.

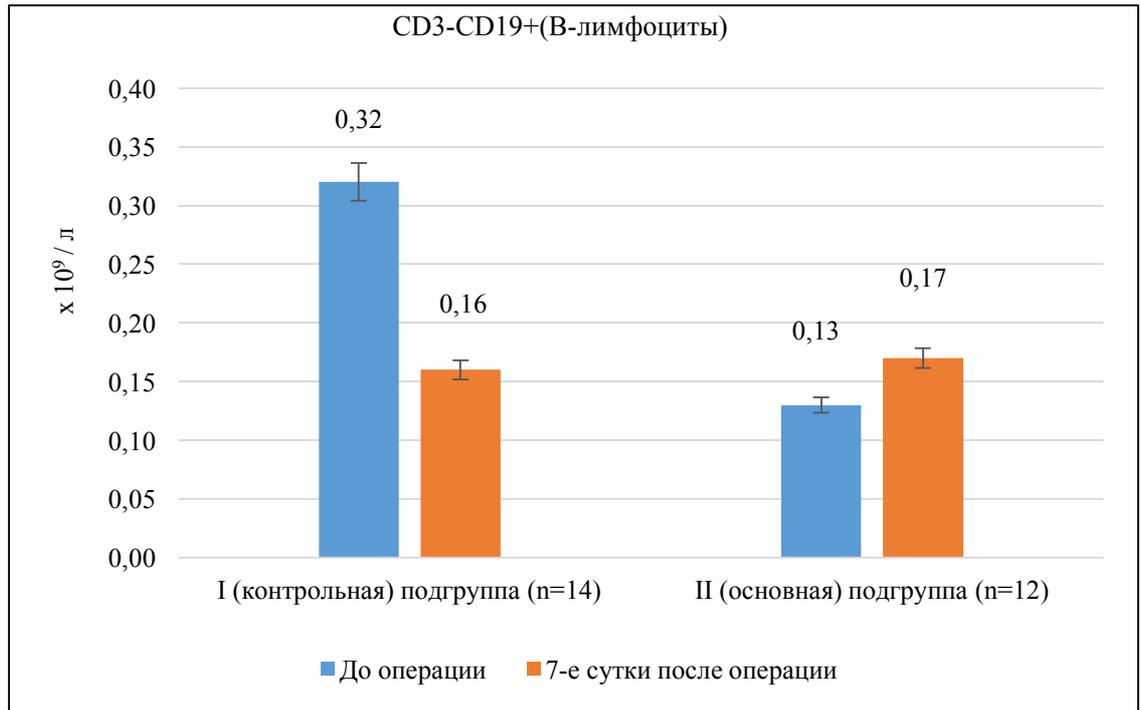


Рисунок 43 – Содержание CD3-CD19+(В-лимфоциты) у пациентов на разных сроках госпитализации.

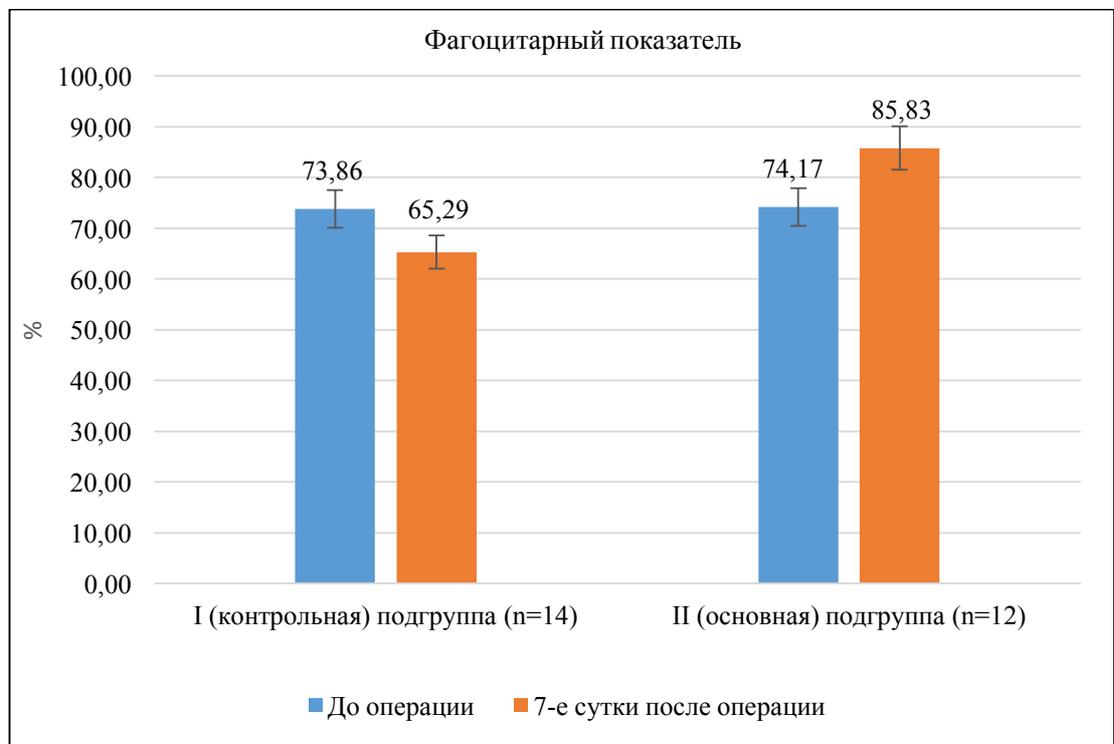


Рисунок 44 – Фагоцитарный показатель у пациентов на разных сроках госпитализации.

Таким образом, при применении Ронколейкина у пациентов основной подгруппы удалось добиться коррекции иммунного статуса. Благодаря опосредованной стимуляции процессов регенерации Ронколейкин способствовал более быстрой облитерации полости желчного пузыря после её демукотизации.

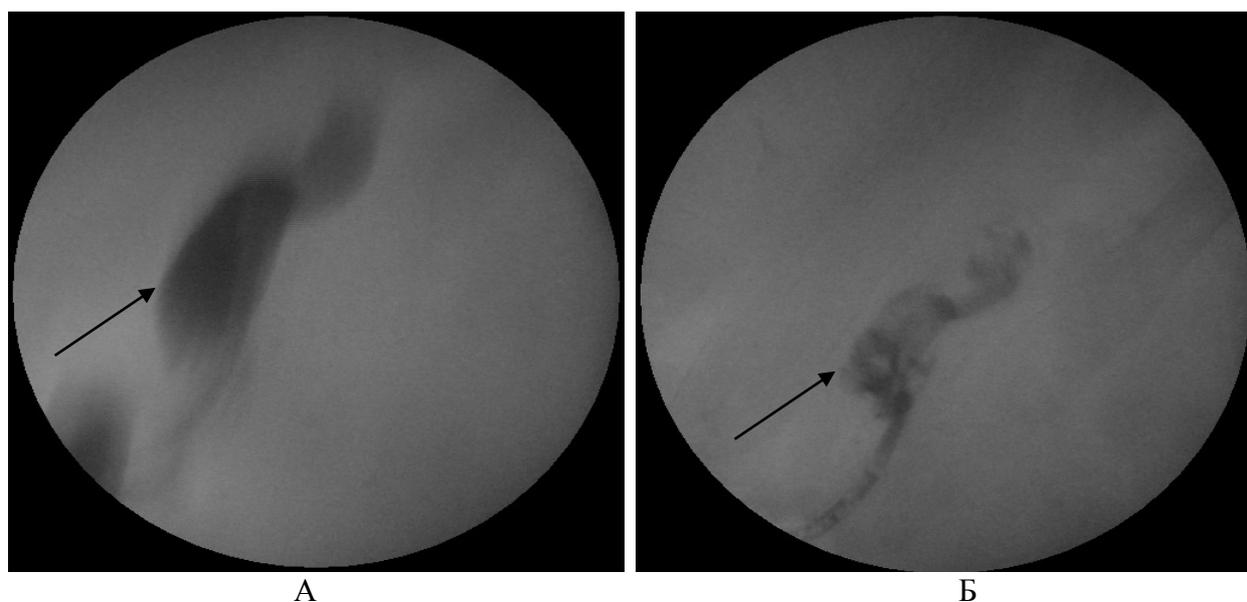


Рисунок 45 – (А) Фистулограмма желчного пузыря на 10-е сутки после «традиционной» холецистостомии, литоэкстракции и термической мукоклазии (стрелкой указана остаточная полость желчного пузыря). (Б) Фистулограмма желчного пузыря на 9-е сутки после «традиционной» холецистостомии и термической мукоклазии с применением в послеоперационном периоде Ронколейкина (стрелкой указана остаточная полость желчного пузыря).

На представленных рентгенограммах (рисунок 45) видно, что контрастное вещество не проникает в пузырьный проток, полость желчного пузыря пациента, у которого термическая мукоклазия дополнялась введением иммуностимулятора в послеоперационном периоде, заметно меньше чем у пациента без иммуностимулирующей поддержки.

Таким образом, проведенное клиническое исследование показало, что «традиционная» холецистостомия с литоэкстракцией и последующей термической мукоклазией приводит к облитерации полости желчного пузыря. Поэтому

дренирующая операция у лиц старшей возрастной группы с высокой степенью операционно-анестезиологического риска трансформируется в радикальное, по клиническому эффекту равное холецистэктомии вмешательству. Включение в комплексную терапию Ронколейкина способствует улучшению иммунной реактивности и приводит к более быстрой облитерации полости желчного пузыря после проведения термической мукоклазии.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Общая заболеваемость острым холециститом остается на высоком уровне, заболеваемость острым холециститом среди пациентов старшей возрастной группы в последние годы увеличивается, это в первую очередь связывают с увеличением продолжительности жизни [2,13,63,101,144]. Наиболее серьезной задачей является лечение острого холецистита у пациентов с высоким уровнем операционно-анестезиологического риска, основной частью которых являются пациенты пожилого и старческого возраста с накопленным за годы грузом сопутствующей патологии [7,20,66,111,135,150]. Так, послеоперационная летальность у лиц старше 60 лет составляет 10-12%, а в возрасте 80 лет и старше данный показатель составляет 65% и более процентов [4,21,35,48,78,103,124,156,179].

Нередко единственным вариантом лечения данной категории больных являются декомпрессионные вмешательства, такие как пункция желчного пузыря под УЗ-контролем и ЧМХС. ЧМХС имеет бесспорные преимущества, однако при данной дренирующей операции не удастся выполнить необходимую литоэкстракцию [5,14,37,47,105,120,145,183].

При «традиционной» холецистостомии удастся не только удалить конкременты, но и выполнить мукоклазию полости желчного пузыря с последующей ее облитерацией, тем самым трансформировать первично дренирующую операцию в радикальную [17,56,61]. Существует несколько способов мукоклазии: химическая, где в качестве химического агента применяют раствор перворура, спирта и др.; физическая, в первую очередь электродеструкция слизистой оболочки; термическая - обработка внутренней поверхности желчного пузыря горячими растворами; комбинированные способы, например, электрокоагуляция шейки желчного пузыря для его «отключения» от билиарного дерева, с последующим термическим воздействием на слизистую оболочку [11,34,44,72,84,122]. С нашей точки зрения, наиболее безопасным и, в то же время, надежным способом демукотизации слизистой оболочки желчного пузыря у пациентов с высоким-операционно-анестезиологическим риском

является применение способа термической мукоклазии 70<sup>0</sup>С раствором фурацилина с помощью баллонного катетера. Данный способ проводится одномоментно, то есть без предварительного «отключения» желчного пузыря, с осуществлением флюороскопического контроля, и последующего контроля качества проведенной мукоклазии [24,25,62].

Одним из факторов негативных результатов лечения хирургических заболеваний у лиц пожилого и старческого возраста является низкая иммунологическая реактивность организма [18,59,85]. У пациентов старшей возрастной группы происходят существенные изменения в иммунной системе [41,75,117,175]. Наличие вторичной иммунной недостаточности усугубляется при остром холецистите тем, что наблюдается феномен взаимного отягощения: из-за недостаточности в системе иммунитета происходит более быстрое развитие деструктивных форм холецистита, а выраженный интоксикационный синдром при флегмонозном или гангренозном холецистите еще больше угнетает и без того нарушенную систему иммунитета [9,52,77,81,99,102,194,].

Таким образом, совершенствование методики термической мукоклазии желчного пузыря является наиболее перспективным. На современном этапе развития медицины управлять процессами воспаления и последующими процессами роста соединительной ткани безопасно и наиболее эффективно можно с помощью иммуномодуляторов [54,67,69,141,169]. Вышеизложенное и определило русло данной научно-исследовательской работы. Применяя иммуностимулятор, удастся не только стимулировать иммуногенез, но и ускорить процессы роста соединительной ткани.

Целью данной диссертационной работы явилось изучение течения воспалительного процесса при остром холецистите у пациентов различных возрастных групп по классификации ВОЗ на основании анализа лабораторных данных больных острым холециститом, выявления характерных отличий морфологических изменений в стенке желчного пузыря при остром холецистите у пациентов различных возрастных групп. Для достижения поставленной цели следовало решить следующие задачи: 1) разработка простой, удобной шкалы

оценки тяжести состояния больных в клинике для выбора дренирующей желчный пузырь операции, у пациентов с высоким операционно-анестезиологическим риском; 2) изучение в эксперименте влияния препарата Ронколейкин на гематологические показатели экспериментальных животных, а также иммунокомпетентные органы, печень, и рост соединительной ткани в стенке желчного пузыря после проведения термической мукоклазии; 3) исследование в клинике влияния препарата Ронколейкин на иммунный статус пациентов с высоким операционно анестезиологическим риском, а также на скорость облитерации полости желчного пузыря после термической мукоклазии.

Диссертационная работа включает экспериментальную и клиническую часть. Экспериментальная часть выполнялась на базе ветеринарной клиники учебно-опытного хозяйства «Знаменское» ФГБОУ ВО Курская ГСХА. Клиническая часть работы была выполнена на базе хирургического отделения ОБУЗ КГКБ № 4 и ОБУЗ КОКБ г. Курска.

Экспериментальное исследование было выполнено на разнополых кроликах (всего 31) породы «шиншилла» весом  $2,5 \pm 0,15$  кг. Экспериментальные животные были промаркированы от 1 до 31, что позволило вести таргетный контроль за показателями крови и морфологии каждого животного до и после операции, и разделены на 4 группы по 7 животных, соответственно срокам выведения из эксперимента (7-е, 14-е, 17-е и 21-е сутки), трем экспериментальным животным не проводилось оперативное вмешательство и не вводился препарат, а выполнялось исследование гематологического статуса на 7-е, 14-е, 17-е и 21-е сутки. В каждой группе животные были разделены на 2 подгруппы: контрольную (3 кролика), которым проводилась мукоклазия желчного пузыря без введения препарата и опытную (4 кролика), которым выполнялась мукоклазия и вводился препарат Ронколейкин в дозе 25 000 МЕ на 1-е, 3-и и 5-е сутки после оперативного вмешательства. Методика и объём оперативного вмешательства во всех подгруппах были одинаковыми. После выведения животных из эксперимента изучали макроскопическое состояние зоны оперативного вмешательства, реакцию брюшины, наличие экссудации, спаек, их распространённость. Оценивали

состояние печени. Для гистологического исследования удаляли участок желчного пузыря с прилежащим участком печеночной паренхимы, отдалённый от зоны операции участок печени, тимус, лимфатические узлы брюшной полости. Полученный материал фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина и заливали в парафин по общепринятой методике [65]. Срезы толщиной 7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином и по Ван-Гизон. Гистологические срезы изучали под световым микроскопом Leica (Германия) и фотографировали цифровой фотокамерой Olympus SP350.

В ходе экспериментального исследования было установлено, что у животных контрольной подгруппы после проведение мукоклазии содержание эритроцитов и концентрация гемоглобина уменьшаются к 14-м суткам, возрастают к 17-м и продолжают увеличиваться до 21-х суток. У животных опытной подгруппы увеличение концентраций эритроцитов и гемоглобина отмечается уже с 7-х по 14-е сутки, после некоторого снижения на 17-е сутки происходит дальнейший рост этих показателей до 21-х суток. Полученные данные свидетельствуют о наличии у Ронколейкина стимулирующего влияния на эритропоэз, что согласуется с исследованиями Т.Я. Вишневской и Л.Л. Абрамовой, которые выявили положительное влияние препарата Ронколейкин на показатели общего анализа крови в виде стимулирующего влияния на эритропоэз животных при стрессе, так же было установлено изменение морфофункциональной структуры селезенки на фоне применения Ронколейкина, в виде увеличения периартериальной и мантийной зон, а также реактивного центра [23]. При использовании препарата Ронколейкин наблюдается также почти двукратное увеличение числа лейкоцитов за счёт субпопуляции лимфоцитов. Об этом свидетельствуют их аналогичные изменения, достигающие максимальных значений на 7-е и 14-е сутки после мукоклазии. А.З. Гусейнов и соавт. в ходе клинического исследования применения Ронколейкина при остром панкреатите показали, что более быстрая нормализация показателей иммунного статуса происходит на фоне включения в схему лечения Ронколейкина [36].

При использовании препарата Ронколейкин после термической мукоклазии желчного пузыря у экспериментальных животных наблюдается увеличение коркового вещества долек тимуса, свидетельствующее о стимуляции пролиферации и дифференцировки Т-лимфоцитов. В лимфатических узлах брюшной полости при применении препарата Ронколейкин после мукоклазии желчного пузыря у экспериментальных животных происходит стимуляция пролиферации и антиген-зависимая дифференцировка иммунокомпетентных лимфоцитов брюшных лимфоузлов в ответ на воспалительный очаг в брюшной полости. Наибольшая активность этого процесса наблюдается к 14-м суткам после мукоклазии, что, как минимум, на 7 дней позже активизации пролиферации и дифференцировки Т-лимфоцитов в тимусе. Следовательно, расширение корковой зоны лимфатических узлов можно рассматривать как последствие ранее описанных изменений в тимусе. При применении Ронколейкина сначала активизируется пролиферация и дифференцировка Т-лимфоцитов в тимусе, что занимает приблизительно 7 дней, а затем в течение следующей недели расширенный пул лимфоцитов стимулируется под воздействием воспалительного процесса уже в брюшных лимфоузлах, причём, на фоне приёма Ронколейкина это происходит на 3 дня раньше, чем в контрольной подгруппе животных.

Влияния препарата Ронколейкин на метаболическую активность гепатоцитов не установлено. Следует отметить некоторую активизацию гепатоцитов на 17-е сутки после мукоклазии, независимо от их удалённости от желчного пузыря и использования иммуностимулятора Ронколейкин.

Толщина стенки желчного пузыря при проведении мукоклазии у экспериментальных животных на фоне применения препарата Ронколейкин была больше на всех сроках выведения их эксперимента. Отмечается значительное повышение концентрации фибробластов и коллагена в стенке желчного пузыря на фоне применения Ронколейкина, а также лимфоцитов и макрофагов на всех сроках выведения из эксперимента. Положительное влияние препарата Ронколейкин на процессы репарации и регенерации подтверждены исследованиями И.И. Долгушина и И.С. Латюшиной, которые установили, что применение Ронколейкина

при лечении гнойных ран обеспечивает миграцию лимфоцитов, макрофагов в очаг воспаления и их дифференцировку, стимуляция местных эффекторных клеток [43].

Нами в ходе экспериментального исследования доказано стимулирующее влияние Ронколейкина на рост и развитие соединительной ткани в зоне альтерации, в частности, в стенке желчного пузыря после проведения термической мукоклазии. Полученные данные согласуются с исследованиями А.М. Куцоля и М.Б. Петровой, которые наблюдали более быстрый рост грануляционной ткани в ране при применении препарата Ронколейкин [67].

Таким образом, необходимо отметить, что процесс облитерации полости желчного пузыря в опытной подгруппе наблюдения происходит на 17-е сутки после проведения термической мукоклазии, в то время как в контрольной подгруппе в этот же срок выявляется остаточная полость в желчном пузыре. Облитерация полости желчного пузыря в контрольной подгруппе наблюдается к 21-м суткам после проведения мукоклазии. Процесс облитерации полости желчного пузыря на фоне применения Ронколейкина происходит в 1,24 раза быстрее, чем без применения иммуностимулятора.

Таким образом, установлено стимулирующее влияние Ронколейкина не только на популяцию лимфоцитов в кровеносном русле, но и на иммунокомпетентные органы, а также на рост соединительной ткани в желчном пузыре после проведения термической мукоклазии.

Для выявления особенностей течения воспалительного процесса при остром холецистите у пациентов старшей возрастной группы мы провели анализ данных 60 историй болезни, а также гистологические исследования биопсийного материала у пациентов различных возрастных групп.

В ходе проведенного анализа историй болезни 60 пациентов с острым холециститом 4 возрастных групп ВОЗ: 1) молодой возраст (18 - 44 года); 2) средний возраст (45 - 59 лет); 3) пожилой возраст (60 - 74 года); 4) старческий возраст (75 - 90 лет), было установлено, что острый холецистит неодинаково протекает в разных возрастных группах. Результаты исследования демонстрируют, что острый холецистит неодинаково протекает в разных возрастных группах.

Наименее выраженные изменения лабораторных показателей — у пациентов молодого возраста, наибольшие — у людей пожилой и старческой групп. В старческой группе острый холецистит протекает на фоне сниженного количества эритроцитов и гемоглобина. Если принять во внимание слабовыраженную динамику со стороны лейкоцитов и, в частности, молодых палочкоядерных форм нейтрофилов, то можно с высокой степенью вероятности говорить о возрастном снижении резервных возможностей красного костного мозга. По мнению А. Lupescu и соавт., анемия в старческом возрасте связана не со снижением эффективности эритропоэза в красном костном мозге, а с повышенным разрушением эритроцитов, вызванным дефицитом глутатиона и повышением окислительного стресса [163].

Пернициозная анемия при старении обусловлена увеличением аутоиммунной активности. Пониженное количество лимфоцитов у людей старческой возрастной группы свидетельствует о недостаточности системы иммунитета, оно требует соответствующей коррекции. Мы обнаружили ряд различий между пациентами пожилой и старческой групп. У пожилых больных снижение показателей красной крови происходит после операции, тогда как больные старческого возраста изначально поступают в состоянии, пограничном с анемией. У пожилых больных до операции выявлено низкое, по сравнению с другими возрастными группами, содержание лейкоцитов, тогда как в старческом возрасте на всех сроках госпитализации — выраженный лейкоцитоз. В пожилой группе СЯН меньше, а в старческой, напротив, больше, чем у других. Наличие нейтропении у пожилых людей при тяжёлых хронических инфекциях было отмечено в работе. Повышенная, по сравнению с другими группами, концентрация циркулирующих СЯН в старческом возрасте может отражать серьёзное нарушение их функциональной активности. По данным ряда авторов, с возрастом наблюдается снижение фагоцитарной активности нейтрофилов, уменьшение продукции ими супероксид-ионов и пероксида водорода, что влечёт за собой повреждения реакций респираторного взрыва [59,85,102,151].

Общим для старших возрастных групп можно считать слабо выраженную динамику лейкоцитов и молодых ПЯН на фоне оперативного вмешательства, являющегося триггером воспалительного процесса в области послеоперационной раны. При этом следует отметить чёткую динамику этих показателей у больных молодого и среднего возраста, проявляющуюся резким повышением лейкоцитов и ПЯН после операции и их достоверным снижением на 5-е сутки после неё. Количество моноцитов и лимфоцитов при остром холецистите выше у пожилых людей и ниже в старческой группе. По данным литературы, при нормальном старении концентрация циркулирующих моноцитов не меняется. Однако в костном мозге отмечается повышенный апоптоз предшественников моноцитов, снижение числа моноцитов и уменьшение количества макрофагов [98,117,143].

При анализе биохимических показателей наиболее выраженные изменения зафиксированы в старческой группе. Снижение общего белка, скорее всего, связано со снижением эритроцитов и гемоглобина. На всех сроках госпитализации у этих больных самые высокие уровни АЛТ, АСТ, билирубина и мочевины, причём для АСТ и мочевины с возрастом установлена достоверная положительная корреляция. Значительное повышение АЛТ, АСТ и билирубина свидетельствует о более тяжёлом поражении печени с выраженным цитолитическим синдромом. Повышенная концентрация мочевины – симптом нарушения функции почек. Совокупность приведенных данных указывает на высокий риск развития печёчно-почечной недостаточности.

Наименее выраженные изменения лабораторных показателей – у пациентов молодого возраста, наибольшие – у людей пожилой и старческой групп. В старческой группе острый холецистит протекает на фоне сниженного количества эритроцитов и гемоглобина. Если принять во внимание слабовыраженную динамику со стороны лейкоцитов и, в частности, молодых палочкоядерных форм нейтрофилов, то можно с высокой степенью вероятности говорить о возрастном снижении резервных возможностей красного костного мозга. Пониженное количество лимфоцитов у людей старческой возрастной группы свидетельствует о недостаточности системы иммунитета, оно требует соответствующей коррекции.

Общим для старших возрастных групп можно считать слабо выраженную динамику лейкоцитов и молодых ПЯН на фоне оперативного вмешательства, являющегося триггером воспалительного процесса в области послеоперационной раны. При этом следует отметить чёткую динамику этих показателей у больных молодого и среднего возраста, проявляющуюся резким повышением лейкоцитов и ПЯН после операции и их достоверным снижением на 5-е сутки после неё. Количество моноцитов и лимфоцитов при остром холецистите выше у пожилых людей и ниже в старческой группе.

В ходе морфологического исследования стенок желчных пузырей у пациентов различных возрастных групп были выявлены некоторые возрастные особенности морфологических изменений в желчном пузыре. В среднем возрасте наблюдаются признаки более выраженного острого характера воспаления, проявляющиеся большим количеством макрофагов и нейтрофилов. У пациентов старше 50 лет значительно более высокая степень лимфоцитарной инфильтрации и фиброза наружной соединительнотканной оболочке, свидетельствующие о более длительном хроническом течении холецистита, полученные данные согласуются с данными других исследователей. [58,62].

Если экстраполировать выявленные изменения на цели мукоклазии желчного пузыря, становится очевидным целесообразность применения стимуляторов роста соединительной ткани для более быстрой облитерации полости желчного пузыря.

Проанализированы результаты применения дренирующих операций 46 больных высокого операционно-анестезиологического риска. Все больные были разделены на 2 группы, в первую вошли 20 пациентов, которым было выполнено ЧЧМХС, во вторую- 26 пациентов, которым производилась «традиционная» холецистостомия, литоэкстракция и термическая мукоклазия желчного пузыря, в свою очередь, пациенты данной группы были разделены на 2 подгруппы- I или контрольную (14 пациентов) и II или основную (12 пациентов), у пациентов II подгруппы в послеоперационном периоде применялся иммуностимулятор Ронколейкин, который вводили подкожно в дозе 500 000 МЕ (0,5мг), на 1-е и 3-и сутки для активизации иммуногенеза и стимуляции роста соединительной ткани с

целью более быстрой облитерации желчного пузыря. Все больные были сопоставимы по возрасту и по степени воспалительных изменений в стенке желчного пузыря (данные УЗИ). ЧМХС подкупает своей малой травматичностью, простотой выполнения, небольшим количеством постманипуляционных осложнений, однако «традиционная» холецистостомия позволяет выполнить литоэкстракцию, полноценную санацию полости желчного пузыря, демукотизацию и, тем самым, трансформировать эту первично дренирующую операцию в «радикальную» [17,24,72,122]. В связи с этим, мы считаем, что предпочтение следует отдать «традиционной» холецистостомии, ЧМХС показана у наиболее тяжелых больных. Разработанная нами прогностическая шкала оценки тяжести состояния больных острым холециститом с высоким операционно-анестезиологическим риском позволяет дифференцированно подойти к выбору дренирующей операции. Она проста, специфична, включает легко определяемые параметры. Данная шкала дополняется УЗИ, при котором учитываются топографо-анатомические особенности положения желчного пузыря и толщина передней брюшной стенки в области правого подреберья пациента. Наши исследования показали, что при сумме баллов 53 и более толщине передней брюшной стенки более 6,5 см, а также «внутрипеченочном» расположении желчного пузыря, показано выполнение ЧМХС, в остальных случаях «традиционной» холецистостомии с последующей термической мукоклазией желчного пузыря. В работах В.П. Башилова и соавт. отчетливо показано, что дифференцированный подход к выбору метода оперативного лечения при лечении острого холецистита у пациентов с высоким операционно-анестезиологическим риском значительно улучшает исход хирургического лечения, снижает уровень послеоперационной летальности, а также сокращает время пребывания пациента в стационаре [16]. Большое значение в выборе метода дренирующей операции в нашем исследовании отдаётся данным УЗИ. Так, в исследованиях К.М. Курбунова и соавт. отмечается особое значение ультразвукового исследования при остром холецистите у пациентов с высоким операционно-анестезиологическим риском. [40].

Исход хирургического вмешательства при остром холецистите во многом определяется состоянием иммунной системы пациента. По данным В.Е. Казимирчук, иммунная система больных старшей возрастной группы находится в состоянии вторичной иммунной недостаточности [52,59], что нашло подтверждение в наших исследованиях при ретроспективном анализе историй болезни больных острым холециститом различных возрастных групп. В связи с этим, интерес представляет использование иммуномодуляторов, и в частности Ронколейкина в комплексной терапии больных острым холециститом. По данным С. В. Авакимяна, применение Ронколейкина при остром деструктивном панкреатите способствовало детоксикации организма, изменению течения воспалительного процесса, ускорению регенерации ткани поджелудочной железы [80]. Применяя Ронколейкин в комплексной терапии перитонита, удавалось уменьшить летальность, сократить количество койко-дней пребывания больных в стационаре [64,127].

При изучении иммунного статуса пациентов старших возрастных групп с острым холециститом было выявлено, что иммунная система больных старшей возрастной группы находится в состоянии вторичной иммунной недостаточности, главным образом за счет клеточного звена иммунитета и недостаточности в системе фагоцитоза. Угнетению иммунной системы при воспалении способствует эндогенная интоксикация. Ронколейкин достоверно снижает уровень эндогенной интоксикации, а также на то, что иммунокоррекция будет наиболее эффективна при максимально раннем начале ее применения [36,64,69,80]. Нами при анализе иммунного статуса было установлено, что при проведении операции данные нарушения без иммуностропной поддержки усугубляются, это выражается в снижении общей концентрации лимфоцитов, а также снижении CD3+(Т-лимфоциты), CD3+CD4+ (Т-хелперы), CD3+CD8+ (Т-ЦТЛ), CD3-CD19+(В-лимфоциты), CD3-CD16+CD56+ (NK), CD3-HLA-DR+ (активированные NK). Изменения в системе фагоцитоза проявляются в снижении фагоцитарного показателя, уменьшении количества КАФ, вследствие чего также уменьшается фагоцитарная емкость крови. Оперативное вмешательство, по нашим данным,

существенно не влияет на концентрацию основных классов иммуноглобулинов. При использовании препарата Ронколейкин после проведения термической мукоклазии желчного пузыря происходит активизация иммунной системы, проявляющаяся в повышении общей концентрации лимфоцитов, а также значительном повышении таких показателей как: CD3+(Т-лимфоциты), CD3+CD4+ (Т-хелперы), CD3+CD8+ (Т-ЦТЛ), CD3+HLA-DR+(зрелые, активированные лимфоциты), CD3-HLA-DR+ (активированные NK). Увеличивается фагоцитарный показатель, и фагоцитарное число, повышается фагоцитарная емкость крови. Происходит увеличение концентрации основных классов иммуноглобулинов.

В исследованиях некоторых авторов показано позитивное влияние препарата Ронколейкин на иммунный статус кардиохирургических больных, что, в свою очередь, приводит к улучшению клинического состоянию данных больных [94]. Применяя Ронколейкин для коррекции вторичного иммунодефицитного состояния при лечении острого деструктивного панкреатита, С.В. Авакимян и соавт. добились снижения числа послеоперационных осложнений на 19,3%, а послеоперационной летальности - в 2 раза [80]. В исследованиях С.Н. Стяжкиной и соавт. было доказано, что Ронколейкин стимулирует функциональную активность Т-и В-лимфоцитов, макрофагов, естественных киллеров, активизирует синтез иммуноглобулинов основных классов [64]. А.Р. Галимова и соавт. отмечают хорошую переносимость Ронколейкина пациентами, высокую клиническую эффективность при лечении воспалительных заболеваний брюшной полости и малого таза, а также при значительном эндотоксикозе, выраженном иммунодефиците, переходе заболевания в хроническую форму. Применение препарата Ронколейкин у больных с высоким операционно-анестезиологическим риском позволяет значительно улучшить исход заболевания [141].

Применяя препарат Ронколейкин при термической мукоклазии желчного пузыря, нам удалось добиться не только коррекции иммунного статуса пациентов старшей возрастной группы с острым холециститом, но и, активируя иммунокомпетентные клетки и клетки фагоцитарно-макрофагальной системы,

добиться более быстрой смены фаз воспалительного процесса, стимулировать процессы роста соединительной ткани. Стимулирование роста соединительной ткани ведет к более быстрой облитерации полости желчного пузыря.

## ВЫВОДЫ

1. Применение препарата Ронколейкин в экспериментальной модели термической мукоклазии желчного пузыря вызывает двукратное увеличение числа лейкоцитов периферической крови за счет субпопуляции лимфоцитов, у животных опытной подгруппы корковое вещество тимуса достоверно ( $p \leq 0,03$ ) больше чем у животных контрольной подгруппы на всех сроках наблюдения, толщина стенки желчного пузыря после проведения термической мукоклазии достоверно ( $p \leq 0,04$ ) больше у животных получавших Ронколейкин после операции на всех сроках эксперимента.

2. Использование препарата Ронколейкин вызывает стимуляцию развития соединительной ткани в стенке желчного пузыря после его термической мукоклазии, что проявляется достоверным увеличением основных соединительнотканых клеток – фибробластов у животных опытной подгруппы по сравнению с контрольной на 14-е сутки эксперимента в 1,83 раза ( $p = 0,01$ ), на 17-е сутки эксперимента в 1,78 раза ( $p = 0,032$ ), на 21-е сутки эксперимента в 1,71 раза ( $p = 0,0005$ ), а также плотности расположения коллагеновых волокон, при применении препарата Ронколейкин облитерация полости желчного пузыря после его термической мукоклазии происходит к 17-м суткам наблюдения.

3. В группе пациентов пожилого и старческого возраста острый холецистит протекает на фоне сниженного количества эритроцитов, гемоглобина и связанных с ними низкими значениями общего белка крови, а также незначительного повышения числа лейкоцитов и палочкоядерных нейтрофилов. Значительное повышение билирубина, АСТ, АЛТ и мочевины в этой группе больных свидетельствует о высоком риске развития печеночно-почечной недостаточности.

4. Морфологические изменения в стенке желчного пузыря при остром холецистите характеризуются возрастными особенностями. В среднем возрасте наблюдаются признаки более выраженного острого характера воспаления, проявляющиеся большим количеством макрофагов и нейтрофилов. У пациентов старше 50 лет отмечена более высокая степень лимфоцитарной инфильтрации и

фиброза наружной соединительнотканной оболочки, что свидетельствует о более длительном хроническом течении холецистита.

5. У больных острым холециститом в старших возрастных группах до операции выявлено снижение общего количества Т-лимфоцитов и увеличение фагоцитарной емкости крови. После операции изменения показателей Т-клеточного звена иммунитета усугубляются двукратным снижением общего числа Т-лимфоцитов и основных популяций Т-хелперов, Т-киллеров, что свидетельствует о необходимости коррекции вторичного иммунодефицита.

6. Предложенная бальная шкала оценки тяжести больных острым холециститом с учетом данных УЗИ позволяет определиться с выбором дренирующей операции у больных с высоким операционно-анестезиологическим риском. При сумме баллов 53 и выше, толщине передней брюшной стенки более 6,5 см, а также «внутрипеченочном» расположении желчного пузыря показано выполнение ЧЧМХС. В остальных случаях предпочтение следует отдавать «традиционной» холецистостомии с последующей термической мукоклазией желчного пузыря.

7. Использование препарата Ронколейкин после термической мукоклазии у больных острым холециститом пожилого и старческого возраста позволяет увеличить общее количество лимфоцитов, абсолютное и относительное количество Т-лимфоцитов, иммуно-регуляторный индекс  $CD3+CD4/CD3+CD8$  на фоне достоверного снижения  $\theta$ -лимфоцитов и повышения содержания зрелых, активированных лимфоцитов  $CD3+HLA-DR+$ , что позволяет рекомендовать Ронколейкин для коррекции вторичного иммунодефицита и ускорения облитерации полости желчного пузыря после термической мукоклазии у пациентов старших возрастных групп.

## РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При наличии противопоказаний к радикальному лечению острого холецистита у больных старшей возрастной группы подход к выбору дренирующей операции должен быть дифференцированным: при крайней степени операционно-анестезиологического риска и неблагоприятном топографо-анатомическом положении желчного пузыря показано выполнение ЧЧМХС, в остальных случаях показано выполнение «традиционной» холецистостомией с последующей термической мукоклазией желчного пузыря.
2. У больных острым холециститом старших возрастных групп целесообразно исследование иммунного статуса для выявления нарушений в системе иммунитета с целью дальнейшей иммунокоррекции.
3. Показано включение в схему лечения больных старшей возрастной группы препарата Ронколейкин с целью коррекции вторичного иммунодефицита и стимуляции развития соединительной ткани в стенке желчного пузыря для более быстрой облитерации его полости после термической мукоклазии желчного пузыря.
4. Теоретические и практические основы диссертационного исследования могут быть использованы на практических занятиях и в лекционном курсе для студентов медицинских вузов при изучении дисциплин «хирургия», «гистология» и «иммунология».

## **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ**

Полученные в ходе исследования результаты, говорят о возможности использования препарата Ронколейкин в для стимуляции развития соединительной ткани в стенке желчного пузыря после термической мукоклазии для более быстрой облитерации его полости. Дальнейшая разработка способов облитерации желчного пузыря у пациентов с острым холециститом высокого операционно-анестезиологического риска крайне важна. Применение стимуляторов роста и развития соединительной ткани в значительной степени позволят уменьшить количество осложнений, добиться более быстрой облитерации полости желчного пузыря и как следствие улучшить качество проводимого лечения.

Исследование иммунного статуса больных острым холециститом старших возрастных групп, позволяет выявлять основные нарушения в системе иммунитета, на основании которых определяются показания для иммунокоррекции. Повсеместное внедрение исследования иммунного статуса позволит своевременно выявлять больных с иммунодефицитом и выполнять им соответствующую иммунокоррекцию с целью предотвращения прогрессирования иммунодефицита на фоне оперативного вмешательства.

**СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ**

- Абс. – абсолютное
- АЛТ – аланинаминотрансфераза
- АСТ – аспартатаминотрансфераза
- БМУ КОКБ – бюджетное муниципальное учреждение Курская областная клиническая больница
- БСДК – большой сосочек двенадцатиперстной кишки
- ВЛХЭ – видеолапароскопическая холецистэктомия
- ВИЧ – вирус иммунодефицита человека
- ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения
- ВПЖХ – внепеченочные желчные ходы
- ГБ – гипертоническая болезнь
- ГЛМЖ – гипертрофия миокарда левого желудочка
- Г + Э – гематоксилин + эозин
- ДН – дыхательная недостаточность
- ЖКБ – желчекаменная болезнь
- ИБС – ишемическая болезнь сердца
- ИЛ – интерлейкин
- ИМТ – индекс массы тела
- ИРИ – иммунорегуляторный индекс
- КГКБ – Курская городская клиническая больница
- ЛФ – лимфоциты
- МЕ – международные единицы
- Мон. – моноциты
- ОБУЗ – областное бюджетное учреждение здравоохранения
- ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения
- ОЦК – объем циркулирующей крови
- ПЯН – палочкоядерные нейтрофилы
- СЯН – сегментоядерные нейтрофилы
- ФГДС – фиброгастродуоденоскопия

ФК – функциональный класс

Ув. – увеличение

УЗ – ультразвуковой

УЗИ – ультразвуковое исследование

ЧДД – частота дыхательных движений

ЧСС – частота сердечных сокращений

ЧЧМХС – чрескожная чреспеченочная микрохолецистостомия

ХБП – хроническая болезнь почек

ХСН – хроническая сердечная недостаточность

ЭКГ – электрокардиография

Эоз – эозинофилы

ЭТН – эндотрахеальный наркоз

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Аббасова, С. Ф. Лапароскопическая холецистэктомия у больных старших возрастных групп // Хирургия. – 2011. – № 9. – С. 83–85.
2. Абдоминальная хирургия : национальное руководство : краткое изд. / под ред. И. И. Затевахина, А. И. Кириенко, В. А. Кубышкина. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 903 с. : ил. – (Национальные руководства).
3. Аксенов, И. В. Эндоскопическая холецистэктомия при остром холецистите у больных пожилого и старческого возраста / И. В. Аксенов, А. В. Оноприев, Н. С. Шейранов // Кубан. науч. мед. вестн. – 2013. – № 3. – С. 24–26.
4. Алгоритм выбора метода хирургического лечения больных острым холециститом с повышенным операционно-анестезиологическим риском / Е. А. Величко [и др.] // Тихоокеан. мед. журн. – 2016. – № 1. – С. 26–29.
5. Алгоритм диагностики и лечения больных пожилого и старческого возраста с острым холециститом, холедохолитиазом и механической желтухой / М. Д. Дибиров [и др.] // Журн. им. Н. В. Склифосовского Неотлож. мед. помощь. – 2017. – Т. 6, № 2. – С. 145–148.
6. Алиев, Ю. Г. Миналапаротомный доступ в хирургическом лечении желчнокаменной болезни // Хирургия. – 2013. – № 3. – С. 95–97.
7. Алымкулов, М. Ч. Минимально инвазивные операции при желчнокаменной болезни у больных пожилого и старческого возраста // Молодой ученый. – 2016. – № 19. – С. 135–139.
8. Анализ иммунного статуса больных колоректальным раком после различных вариантов оперативного вмешательства [Электронный ресурс] / В. Е. Колесников [и др.] // Современ. проблемы науки и образования. – 2016. – № 6. – URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=25733>, свободный.
9. Анисимов, В. Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения / В. Н. Анисимов. – 2-е изд., доп. – СПб. : Наука, 2008. – Т. 1. – 481 с.
10. Аралова, М. В. Оценка эффективности применения комбинации

- концентрированной суспензии тромбоцитов и нативного нереконструированного коллагена для местного лечения трофических язв малых и средних размеров / М. В. Аралова, А. А. Глухов // Вестн. эксперим. и клинич. хирургии. – 2016. – Т. 9, № 4. – С. 275–280.
11. Архипов, О. И. Химическая мукоклазия желчного пузыря в лечении острого холецистита у больных с высоким операционно-анестезиологическим риском (клинико-экспериментальное исследование) : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.27 / О. И. Архипов. – Ставрополь, 2001. – 25 с.
  12. Бабанов, С. А. Парадигма доказательной медицины // Мед. альм. – 2010. – № 3. – С. 187–192.
  13. Балаян, Г. З. Современные возможности хирургического лечения острого холецистита у пациентов с высоким операционно-анестезиологическим риском // Инновации и инвестиции. – 2015. – № 11. – С. 168–171.
  14. Баранов, Г. А. Мини-инвазивные способы холецистэктомии у больных старших возрастных групп при остром холецистите / Г. А. Баранов, Е. А. Решетников, Б. В. Харламов // Хирургия. – 2008. – № 6. – С. 27–30.
  15. Баталова, Ю. С. Анатомо-хирургические основы оптимизации техники лапароскопической холецистэктомии / Ю. С. Баталова, И. И. Каган, О. Б. Нузова // Перм. мед. журн. – 2016. – Т. 33, № 5. – С. 27–31.
  16. Башилов, В. П. Дифференцированный подход к выбору метода лечения острого калькулезного холецистита у пациентов старшей возрастной группы / В. П. Башилов, О. Ю. Василенко, Б. В. Харламов // Кремлев. медицина. Клинич. вестн. – 2011. – № 4. – С. 19–23.
  17. Биполярная мукоклазия как завершающий этап в лечении желчно-каменной болезни у больных пожилого и старческого возрастов / Ю. В. Канищев [и др.] // Актуальные вопросы хирургии : материалы науч.-практ. конф. хирургов ЦФО РФ [Орел, 28 - 29 мая 2009 г.] / [под общ. ред. В. С. Савельева]. – Орел, 2009. – С. 72.
  18. Бледнов, А. В. Особенности иммунного статуса у больных с гнойно-

- воспалительными заболеваниями // *Новости хирургии.* – 2005. – Т. 13, № 1-4. – С. 37–45.
19. Борисов, А. Е. Навигационные технологии при лечении больных острым холециститом и высоким операционным риском / А. Е. Борисов, К. Г. Кубачев, Э. П. Магомедов // *Анналы хирург. гепатологии.* – 2008. – Т. 13, № 3. – С. 40.
20. Брискин, Б. С. Выбор способа операции при остром холецистите / Б. С. Брискин, А. Н. Гудков, О. В. Ломидзе // *Неотложная медицина в мегаполисе : материалы междунар. форума.* – М., 2004. – С. 39–40.
21. Вахрушев, Я. М. Желчнокаменная болезнь: эпидемиология, факторы риска, особенности клинического течения, профилактика / Я. М. Вахрушев, Н. А. Хохлачева // *Арх. внутр. медицины.* – 2016. – № 3. – С. 30–35.
22. Винокуров, М. М. Осложнения лапароскопической холецистэктомии при остром холецистите у лиц пожилого и старческого возраста / М. М. Винокуров, П. Н. Бушков, В. С. Петров // *6-й Моск. междунар. конгр. по эндоскоп. хирургии.* – М., 2002. – С. 88–90.
23. Вишневская, Т. Я. Сравнительная оценка показателей крови и структурно-функциональных изменений селезенки кролика в условиях стресса и его коррекции / Т. Я. Вишневская, Л. Л. Абрамова // *Вестн. АПК Ставрополя.* – 2014. – № 1 (13). – С. 146–149.
24. Волков, Д. В. Клинико-экспериментальное обоснование способов мукоклазии желчного пузыря при лечении холецистостомированных больных (клинико-экспериментальное исследование) : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.27 / Д. В. Волков. – Курск, 2009. – 147 с. : ил.
25. Волков, Д. В. Способ термической мукоклазии желчного пузыря в лечении холецистостомированных больных пожилого и старческого возраста / Д. В. Волков, С. Г. Горелик // *Науч. ведомости Белгород. гос. ун-та. Сер.: Медицина. Фармация.* – 2011. – Т. 15, № 16. – С. 271–277.
26. Воронов, Л.Н. Компьютерная технология обработки фотографий гистологических срезов / Л. Н. Воронов, В. Ю. Константинов, В. А. Козлов //

Материалы Четвертой Международной научной школы "Наука и инновации – 2009" ISS "SI-2009" : материалы четвертого междунар. науч. семинара "Фундаментальные исследования и инновации" и Всерос. молодеж. науч. семинара "Наука и инновации – 2009". – Йошкар-Ола: МарГУ, 2009. – С. 143–145.

27. Выбор рациональной хирургической тактики у больных с желчнокаменной болезнью пожилого и старческого возраста / Н. А. Майстренко [и др.] // Вестн. хирургии. – 2010. – Т. 169, № 3. – С. 71–77.
28. Гавриденко, А. В. Диагностика и хирургическая профилактика тромбоэмболии легочной артерии у больных с флотирующими тромбами глубоких вен инфраингвинальной зоны / А. В. Гавриленко, П. Е. Вахратьян, Б. А. Махамбетов // Хирургия. – 2011. – № 12. – С. 16–18.
29. Гальперин, Э. И. Темп декомпрессии желчных протоков при механической желтухе опухолевой этиологии / Э. И. Гальперин, А. Е. Котовский, О. Н. Момунова // Хирургия. – 2011. – № 8. – С. 33–40.
30. Глухов, А. А. Диагностика и лечение обтурационной желчекаменной тонкокишечной непроходимости / А.А. Глухов [и др.] // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2016. – Т. 9, № 1 (30). – С. 39–42.
31. Григорьева, И. Н. Основные факторы риска и качество жизни у больных желчнокаменной болезнью / И. Н. Григорьева, Т. И. Романова // Эксперим. и клинич. гастроэнтерология. – 2011. – № 4. – С. 21–25.
32. Григорьева, И. Н. Распространенность желчнокаменной болезни в различных регионах // Клинич. медицина. – 2007. – Т. 85, № 9. – С. 27–30.
33. Григорьева, И. Н. Роль гиперлипидемии при желчекаменной болезни / И. Н. Григорьева, С. К. Малютина, М. И. Воевода // Эксперим. и клинич. гастроэнтерология. – 2010. – № 4. – С. 64–68.
34. Гуляев, А. А. Облитерация просвета желчного пузыря у больных с высоким операционным риском / А. А. Гуляев, С. Г. Шаповальянц, В. А. Бурова // Хирургия. – 1998. – № 9. – С. 42–44.

35. Гурцкой, Л. З. Патогенез, диагностика и лечение острого холецистита с декомпенсированной патологией сердечно-сосудистой системы // Медицина: теория и практика. – 2017. – Т. 2, № 3. – С. 24–32.
36. Гусейнов, А. З. Ронколейкин в лечении больных острым панкреатитом / А. З. Гусейнов, Д. А. Истомина, Мир Абу Захид // Вестн. новых мед. технологий. – 2007. – Т. 14, № 1. – С. 146–147.
37. Давлатов, С. С. Эффективность миниинвазивных методов хирургического лечения больных с острым деструктивным холециститом / С. С. Давлатов, Ф. Ф. Жураева, К. Б. Юсупалиева // АCADEMY. – 2017. – № 7. – С. 92–94.
38. Данилов, М. В. Осложнения минимально инвазивной хирургии. Хирургическое лечение осложнений минимально инвазивных вмешательств на желчных путях и поджелудочной железы / М. В. Данилов, В. Г. Зурабиани, Н. Б. Карпова. – М. : БИНОМ, 2015. – 304 с.
39. Демьянов, А. В. Диагностическая ценность исследования уровней цитокинов в клинической практике / А. В. Демьянов, А. Ю. Котов, А. С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2003. – Т. 2, № 3. – С. 20–35.
40. Диагностика и тактика лечения перипузырного инфильтрата при остром калькулезном холецистите / К. М. Курбонов [и др.] // Здравоохранение Таджикистана. – 2017. – № 2. – С. 22–27.
41. Динамическая оценка показателей иммунного статуса у больных с разлитым гнойным перитонитом / И. А. Чернов [и др.] // Мед. наука и образование Урала. – 2010. – № 2-2. – С. 108–110.
42. Дифференцированный выбор дренирующих операций в лечении острого холецистита у больных с высокой степенью операционно-анестезиологического риска / П. М. Назаренко [и др.] // Актуальные вопросы хирургии : материалы науч. конф. с междунар. участием (Курск, 7 окт. 2011 г.). – Курск : Изд-во КГМУ, 2011. – С. 39–41.
43. Долгушин, И. И. Влияние местного лечения ронколейкином на течение гнойного раневого процесса и функциональную активность раневых

- фагоцитов у пациентов с одонтогенными флегмонами / И. И. Долгушин, Л. С. Латюшина // Мед. иммунология. – 2009. – Т. 11, № 1. – С. 95–100.
44. Емельянов, С. И. Эндоскопическое удаление слизистой оболочки желчного пузыря после холецистостомии / С. И. Емельянов, В. В. Феденко, А. А. Барсегян // Вестн. хирургии. – 2001. – Т. 160, № 2. – С. 94–98.
45. Ермолов, А. С. Хирургическое лечение острого холецистита у больных с высоким операционным риском / А. С. Ермолов, А. А. Гуляев, П. А. Иванов // Актуальные проблемы неотложной хирургии : материалы выездного пленума Проблем. комиссии «неотложная хирургия», посвящ. 60-летию науч. о-ва хирургов на Кавказ. Минеральных Водах (Пятигорск, 19–20 окт. 2005 г.). – Пятигорск, 2005. – С. 28–29.
46. Желчнокаменная болезнь : руководство / С. А. Дадвани [и др.]. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 176 с. : ил.
47. Жигаев, Г. Ф. Выбор тактики лечения острого холецистита у больных повышенного операционного риска / Г. Ф. Жигаев, Е. В. Кривигина, С. М. Николаев // Вестн. Бурят. гос. ун-та. – 2012. – Спецвып. – С. 219–223.
48. Жидков, С. А. Влияние сопутствующей патологии на исходы острого холецистита у больных старше 60 лет / С. А. Жидков, И. А. Елин // Новости хирургии. – 2009. – Т. 17, № 4. – С. 16–22.
49. Иванов, Ю. В. Особенности хирургического лечения острого холецистита у больных пожилого и старческого возраста / Ю. В. Иванов, В. Н. Воробьёв // Вестн. новых мед. технологий. – 2007. – Т. 14, № 4. – С. 180–182.
50. Иллюстрированное руководство по эндоскопической хирургии : учеб. пособие для врачей-хирургов / под ред. С. И. Емельянова. – М. : МИА, 2004. – 217 с. : ил.
51. Ильченко, А.А. Заболевания желчного пузыря и желчных путей / А.А. Ильченко. – М.: Анахарсис, 2006. – 234 с.
52. Иммунологические проблемы в хирургии // Мед. иммунология. – 2009. – Т. 11, № 4–5. – С. 456–465.
53. Иммуноterapia язвенной болезни желудка, ассоциированной с

- Helicobacter Pylori* препаратом рекомбинантного IL-2 / Т. А. Смирнова [и др.] // Кубан. науч. мед. вестн. – 2017. – Т. 24, № 4. – С. 122–127.
54. Имплантационное применение препарата «Оксицеланим» для профилактики гнойно-септических осложнений у больных острым калькулезным холециститом / С. И. Леонович [и др.] // Медицина. – 2000. – № 4. – С. 27–29.
55. Использование лапароскопической холецистэктомии при лечении деструктивных форм острого холецистита у больных старших возрастных групп / А. П. Уханов [и др.] // Эндоскоп. хирургия. – 2012. – № 2. – С. 16–20.
56. Использование плазменных технологий при хирургическом лечении желчнокаменной болезни / А. Г. Хасанов [и др.] // Урал. мед. журн. – 2012. – № 5. – С. 133–135.
57. История развития лапароскопической хирургии / И. Е. Хатьков [и др.] // Онкол. колопроктология. – 2012. – № 2. – С. 35–40.
58. Ишунина, Т. А. Размеры ядер и перикарионов нейронов базального ядра Мейнерта и заднего гипоталамуса в разных возрастных группах // Успехи геронтологии. – 2015. – Т. 28, № 1. – С. 37–41.
59. Казимирчук, Е. В. Клиническая иммунология и аллергология с возрастными особенностями / Е. В. Казимирчук, Л. А. Ковальчук, Д. В. Мальцев. – Киев : Медицина, 2012. – 520 с.
60. Карпухин, Г. Н. Экстренные видеолапароскопические холецистэктомии у лиц пожилого и старческого возраста / Г. Н. Карпухин, В. Н. Лейбельс, С. Н. Боев // Новые технологии в хирургии : сб. тр. Междунар. хирург. конгр. – Ростов н/Д., 2005. – С. 212.
61. Карташов, А. В. Термическая мукоклазия желчного пузыря в лечении больных со свищами желчного пузыря / А. В. Карташов, Б. А. Мейлах, М. И. Прудков // Эндоскопическая хирургия. – 2017. – Т. 13, № 1. – С. 52–53.
62. Клинико-экспериментальное обоснование способов мукоклазии желчного пузыря при лечении холецистостомированных больных / П. М.

- Назаренко [и др.] // Вестн. эксперим. и клинич. хирургии. – 2010. – Т. 3, № 1. – С. 35–43.
63. Клиническая хирургия : нац. рук. / под ред. В. С. Савельева, А. И. Кириенко. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009. – Т. 2. – 825 с. : ил. + 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).
64. Клиническая эффективность лечения больных перитонитом с применением препарата «Ронколейкин» / С. Н. Стяжкина [и др.] // Современ. тенденции развития науки и технологий. – 2016. – № 4-2. – С. 92–99.
65. Клюкина, Л.Б. Актуальные вопросы клинической цитологии и новые технологии в оптимизации метода / Л. Б. Клюкина, О. А. Ерохина // Онкол. журн. – 2010. – Т. 4, № 3 (15). – С. 50–55.
66. Кузнецов, Н. А. Малоинвазивные вмешательства под контролем УЗИ у больных с высокой степенью анестезиологического риска при различных формах острого калькулезного деструктивного холецистита / Н. А. Кузнецов, Г. В. Родоман, Д. В. Плоткин // Чрескожные и внутриспросветные эндоскопические вмешательства в хирургии : тез. докл. междунар. науч.-практ. конф. – М., 2011. – С. 79–81.
67. Куцоля, М. А. Характеристика клеточного состава грануляционной ткани при применении иммунокорректора «Ронколейкин» [материалы докл. IX конгр. МАМ] / М. А. Куцоля, М. Б. Петрова // Морфология. – 2008. – Т. 133, № 2 – С. 75.
68. Лечебная тактика при остром холецистите, осложненном механической желтухой, у больных пожилого и старческого возраста / М. Д. Дибиров [и др.] // Хирург. практика. – 2011. – № 2. – С. 21–26.
69. Лечение больных с синдромом диабетической стопы «Ронколейкином» / С. Н. Стяжкина [и др.] // Наука и образование сегодня. – 2017. – № 5. – С. 77–79.
70. Лечение острого холецистита: опыт и перспективы / А. Б. Мальцев [и др.] // Бюл. Вост.-Сиб. науч. центра Сиб. отделения РАМН. – 2011. – № 4-2. – С. 116–122.

71. Лими́на, М. И. Острый холецистит у больных старческого возраста : дис. канд. мед. наук : 14.00.27 / М. И. Лими́на. – Ярославль, 2007. – 168 с. : ил.
72. Мейлах, Б. Л. Термическая мукоклазия желчного пузыря в лечении больных с крайними степенями операционного риска / Б. Л. Мейлах, А. В. Карташов // Сб. тез. 9-го Моск. междунар. конгр. по эндоскоп. хирургии. – М., 2005. – С. 209-211.
73. Миниинвазивные вмешательства при остром холецистите: состояние проблемы по данным доказательной медицины / А. Г. Бебуришвили [и др.] // Анналы хирург. гепатологии. – 2011. – Т. 16, № 2. – С. 83–88
74. Миниинвазивные технологии в лечении острого холецистита у больных с высоким операционно-анестезиологическим риском / А. С. Ермолов [и др.] // Хирургия. – 2014. – № 8. – С. 4–8.
75. Михайленко, К. А. Изменения биохимических показателей у больных, страдающих острым калькулезным холециститом / К. А. Михайленко, Н. Н. Улитина, Н. А. Федичева // Современная медицина: актуальные вопросы. – 2017. – № 3 (55). – С. 109–116.
76. Михин, И. В. Холецистэктомия: эволюция лапароскопического доступа / И. В. Михин Ю. В. Кухтенко М. Б. Доронин // Эндоскоп. хирургия. – 2015. – № 1. – С. 42–60.
77. Могилевец, Э. В. Влияние техники лапароскопической холецистэктомии на функцию печени, систему иммунитета, результаты операции (влияние техники ЛХЭ на результаты операции) // Вестн. Витеб. гос. мед. ун-та. – 2007. – Т. 6, № 4. – С. 60–69.
78. Мойсев, П. Н. Оптимизация двухэтапного хирургического лечения острого холецистита у геронтологических больных // Вестн. молодого ученого. – 2015. – № 2 (9). – С. 30–31.
79. Мусаев, У. С. Клинические проявления желчнокаменной болезни у больных пожилого и старческого возраста и в возрасте до 50 лет / У. С. Мусаев, А. С. Токтосунов, М. Ч. Алымкулов // Известия вузов Кыргызстана. – 2015. – № 2. – С. 78–79.

80. Наш опыт лечения острого деструктивного панкреатита ронколейкином / С. В. Авакимян [и др.] // Кубан. науч. мед. вестн. – 2013. – № 3. – С. 21–24.
81. Нейроиммуноэндокринные механизмы старения / М. А. Пальцев [и др.] // Успехи геронтологии. – 2009. – Т. 22, № 1. – С. 24–36.
82. Недугов, Г. В. Критерии достоверности диагностических и скрининговых технологий в биомедицине / Г. В. Недугов // Проблемы экспертизы в медицине. – 2009. – Т. 9, № 2-3 (34-35). – С. 21–24.
83. Николаева, З. К. Ронколейкин – рекомбинантный интерлейкин-2 человека: фармакология и биологическая активность : пособие для врачей / З. К. Николаева, В. Н. Егорова, В. К. Козлов. – СПб. : Изд. СПб ун-та, 2002. – 40 с.
84. Никуленков, С. Ю. Эндоскопическая облитерация желчного пузыря у больных острым холециститом с высоким операционным риском / С. Ю. Никуленков, А. В. Бельков, А. С. Ефимкин // Эндоскоп. хирургия. – 1998. – № 1. – С. 34.
85. Новиков, П. Д. Принципы оценки иммунного статуса и диагностики иммунодефицитных болезней / П. Д. Новиков, Н. Ю. Коневалова, Н. Д. Титова // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2005. – № 2. – С. 8–22.
86. Омаров, Р.А. Холецистэктомия из мини-лапаротомного доступа у больных пожилого и старческого возраста / Р. А. Омаров, А.С. Токтосунов, А.Б. Авасов // Казан. мед. журн. – 2016. – № 1. – С. 37–41.
87. Онкология : национальное руководство / гл. ред. В. И. Чиссов, М. И. Давыдов, науч. ред. Г. А. Франк, С. Л. Дарьялов. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 1061 с. : ил. + 1 эл. опт. диск (CD-ROM).
88. Опыт лечения острого калькулезного холецистита у больных пожилого и старческого возраста / А. А. Чумаков [и др.] // Клинич. геронтология. – 2008. – № 4. – С. 43–47.
89. Особенности анестезиологического пособия и интенсивная терапия острого калькулёзного холецистита в ближайшем послеоперационном

- периоде / И. В. Боронина [и др.] // Науч.-мед. вестн. Центр. Черноземья. – 2017. – № 67. – С. 14–18.
90. Особенности диагностики и лечения острого холецистита у лиц пожилого и старческого возраста / А. Б. Байжаркинова [и др.] // Мед. журн. Запад. Казахстана. – 2010. – № 1. – С. 102–105.
91. Особенности клеточного звена иммунитета у больных механической желтухой доброкачественного генеза в зависимости от уровня билирубина / О. В. Смирнова [и др.] // Фундам. исследования. – 2015. – № 2-10. – С. 2174–2179.
92. Особенности лечения острого холецистита у лиц пожилого и старческого возраста / А. Н. Дешук [и др.] // Актуальные проблемы медицины : материалы ежегод. итог. науч.-практ. конф. (26–27 янв. 2017 г.) [г. Гродно] / Гродн. гос. мед. ун-т. – Гродно, 2017. – С. 265–269.
93. Особенности общехирургических операций у больных с имплантированным электрокардиостимулятором / А. В. Сажин [и др.] // Хирургия. – 2010. – № 9. – С. 9–16.
94. Острый холецистит / А. И. Черепанин [и др.]. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014. – С. 96–111.
95. Отдаленные результаты малоинвазивных вмешательств при остром холецистите у больных старших возрастных групп [Электронный ресурс] / В. В. Копылов [и др.] // Соврем. проблемы науки и образования. – 2014. – № 3. – URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=13432>
96. Оценка качества жизни пациентов пожилого и старческого возраста после различных видов холецистэктомии по поводу острого деструктивного холецистита / Е. А. Величко [и др.] // Вестн. Иванов. мед. акад. – 2015. – Т. 20, № 4. – С. 28–33.
97. Пальцев, А. И. Патология билиарного тракта у лиц пожилого возраста с позиций системного подхода. Принципы терапии / А. И. Пальцев, А. А. Еремина, Е. Н. Горбунова // Эксперим. и клинич. гастроэнтерология. – 2011. – № 4. – С. 48–54.

98. Парахонский, А. П. Показатели иммунитета в оценке биологического возраста // *Фундам. исследования.* – 2005. – № 7. – С. 77–78.
99. Парахонский, А. П. Методологические аспекты изучения иммунитета при старении // *Соврем. наукоемкие технологии.* – 2005. – № 2. – С. 42–43.
100. Повреждения магистральных желчных протоков при холецистэктомии из мини-доступа / В. Г. Агаджанов [и др.] // *Рос. мед. журн.* – 2011. – № 2. – С. 18–20.
101. Подолужный В. И. Осложнения желчнокаменной болезни // *Фундам. и клинич. медицина.* 2017. – Т. 2, № 1. – С. 102–114.
102. Показатели иммунитета в оценке компенсаторно-адаптационных процессов в течении острого холецистита / Л. Е. Лаповец [и др.] // *Загальна патологія та патологічна фізіологія (Луганск).* – 2013. – Т. 8, № 3. – С. 124–129.
103. Попова, М. И. Частота развития ранних послеоперационных осложнений при выполнении экстренной холецистэктомии / М. И. Попова, С. А. Столяров, В. А. Бадеян // *Вестн. мед. ин-та «РЕАВИЗ».* – 2017. – № 3. – С. 35–38.
104. Потапнев, М. П. Препараты интерлейкина-2. Биологическое действие *in vitro* и возможности применения в терапии онкологических больных // *Современная фармакология: цитокины : материалы науч.-практ. конф.* – Минск : БелГИУВ, 2000. – С. 42–45.
105. Применения холецистостомии в лечении острого холецистита / В. Б. Карабанович [и др.] // *Медицина критических состояний.* – 2009. – Т. 3, № 3. – С. 55–58.
106. Пучков, К. В. Трансляминальная (N.O.T.E.S.) минилапароскопически ассистированная, однопрокольная и традиционная лапароскопическая холецистэктомия – что выбрать? Оценка результатов лечения пациентов с неосложненной желчнокаменной болезнью и полипозом желчного пузыря / К. В. Пучков, Д. К. Пучков, Д. А. Хубезов // *Эндоскоп. хирургия.* – 2013. – Т. 19, № 6. – С. 16–22.

107. Раимжанова, А. Б. Сравнительная оценка различных способов холецистэктомии // Наука и здравоохранение. – 2016. – № 1. – С. 40–53.
108. Ребенок, Ж. А. Ронколейкин как средство иммуновосстановительного лечения // Здравоохранение (Минск). – 2011. – № 6. – С. 56–60.
109. Результаты двухэтапного хирургического лечения больных с острым деструктивным калькулезным холециститом [Электронный ресурс] / О. Р. Арутюнов [и др.] // Науч. вестн. здравоохранения Кубани. – 2016. – № 43 (3). – URL: <http://vestnik.kkb2-kuban.ru/pdf/16/03/01.pdf>, свободный.
110. Результаты применения дифференцированной тактики лечения калькулезного холецистита / С. В. Соколова [и др.] // Актуал. вопросы хирургии : сб. ст., посвящ. 90-летию каф. фак. хирургии Иркут. гос. мед. ун-та / под ред. А. В. Щербатых. – Иркутск, 2012. – С. 70–72.
111. Роль пункционно-дренирующих вмешательств в лечении острого калькулезного холецистита у больных пожилого и старческого возраста / Н. И. Глушков [и др.] // Скорая мед. помощь. – 2016. – Т. 17, № 1. – С. 73–76.
112. Ронколейкин в иммунопрофилактике постхирургических инфекций : пособие для врачей / [авт.-сост.: А. А. Останин и др.] ; ГУ НИИ клинич. иммунологии, Сиб. отд-ние РАМН. – Новосибирск : Скиф, 2005. – 31 с.
113. РОНКОЛЕЙКИН®. Комплексное лечение инфекционных заболеваний / авт.-сост.: В. Н. Егорова, А. М. Попович. – СПб. : Альтернативная полиграфия, 2004. – 48 с.
114. Руководство по хирургии желчных путей / под ред. Э. И. Гальперина, П. С. Ветшева. – М. : Видар-М, 2006. – 561 с.
115. Рутенбург, Г. М. Эффективность применения малоинвазивных оперативных доступов при хирургическом лечении холедохолитиаза / Г. М. Рутенбург, И. П. Румянцев, А. В. Протасов // Эндоскоп. хирургия. – 2008. – № 1. – С. 25–29.
116. Рыбачков, Е. Н. Острый холецистит у больных старческого возраста / В. Б. Рыбачков, Е. Н. Кабанов, М. И. Лимица // Клинич. геронтология. – 2008. – № 4. – С. 34–39.

117. Сергеева, Е. В. Состояние иммунитета у лиц пожилого возраста // Экология человека. – 2010. – № 5. – С. 55–58.
118. Системы оценки достоверности научных доказательств и убедительности рекомендаций: сравнительная характеристика и перспективы унификации / Н.С. Андреева [и др.] // Мед. технологии. Оценка и выбор. – 2012. – №4 (10). – С.10 – 24.
119. Современный подход к лечению пациентов с распространенным гнойным перитонитом / Д. В. Черданцев [и др.] // Сиб. мед. обозрение. – 2016. – № 6. – С. 24–35.
120. Совцов, С. А. Минилапаротомная холецистостомия при остром холецистите у пациентов старческого возраста / С. А. Совцов, Е. В. Прилепина, М.А. Ионин // Анналы хирург. гепатологии. – 2014. – Т. 19, № 1. – С. 68–74.
121. Совцов, С. А. Холецистит у больных высокого риска / С. А. Совцов, Е. В. Прилепина // Хирургия. – 2013. – № 12. – С. 18–23.
122. Способ биполярной мукоплазии как альтернатива холецистэктомии у больных с высокой степенью операционно-анестезиологического риска / П. М. Назаренко [и др.] // Анналы хирург. гепатологии. – 2005. – Т. 10, № 2. – С. 210а-210.
123. Стяжкина С. Н. Осложнения холецистита / С. Н. Стяжкина, А. Р. Сайфуллина, С. И. Загидулина // Синергия наук. – 2017. – № 10. – С. 818–822.
124. Сухарева, Г. В. Факторы риска при желчнокаменной болезни у лиц пожилого возраста / Г. В. Сухарева, М. Е. Дорофеев // Клинич. геронтология. – 2008. – № 1. – С. 8–12.
125. Токтосунов, А. С. Программированное лечение больных острым холециститом пожилого и старческого возраста // Наука, новые технологии и инновации. – 2015. – № 1. – С. 105–107.
126. Тотиков, В. З. Хирургическая тактика при деструктивном холецистите у больных пожилого и старческого возраста / В. З. Тотиков, В. Д. Слепушкин,

- А. Э. Кибизова // Хирургия. – 2005. – № 6. – С. 20–23.
127. Тусупкалиев, А. Б. Иммунологическая характеристика эффективности местного применения ронколейкина у детей с перитонитом / А. Б. Тусупкалиев, Ж. Т. Баубеков // Успехи соврем. естествознания. – 2015. – № 9. – С. 92–94.
128. Федоров, И. В. Эндоскопическая хирургия / И. В. Федоров, Е. И. Сигал. – М. : ГЭОТАР-Мед, 2009. – 584 с.
129. Хирургическая тактика при остром холецистите и холедохолитиазе, осложненном механической желтухой, у больных пожилого и старческого возраста / Б. С. Брискин [и др.] // Анналы хирург. гепатологии. – 2008. – Т. 13, № 3. – С. 15–19.
130. Хирургическое лечение острого холецистита у больных с высоким операционным риском / А. С. Ермолов [и др.] // Актуальные проблемы неотложной хирургии : материалы выездного пленума Проблемной комиссии «Неотложная хирургия», посвящ. 60-летию науч. о-ва хирургов на Кавказских Минеральных Водах (Пятигорск, 19-20 октября 2005). – Пятигорск, 2005. – С. 28–29.
131. Хохлачева, Н. А. Пути повышения эффективности диспансеризации больных ранней стадией желчнокаменной болезни / Н. А. Хохлачева, Е. В. Сучкова, Я. М. Вахрушев // Эксперим. и клинич. гастроэнтерология. – 2013. – № 4. – С. 15–20.
132. Хрупкин, В. И. Сравнительный анализ УЗ-диагностических декомпрессионных вмешательств при остром обтурационном холецистите у больных с высоким операционно-анестезиологическим риском / В. И. Хрупкин, А. Н. Афанасьев, Н. С. Глаголев // Вестн. Новгород. гос. ун-та им. Я. Мудрого. – 2015. – № 2 (85). – С. 62–67.
133. Черкасов, М. Ф. Возможность прогнозирования отдаленных результатов холецистэктомии [Электронный ресурс] // Соврем. проблемы науки и образования. – 2016. – № 3. – URL: <https://science-education.ru/article/view?id=24834>

134. Чернов, В. Н. Постхолецистэктомический синдром в хирургии острого холецистита у больных пожилого и старческого возраста / В. Н. Чернов, И. В. Суздальцев, С. И. Кубанов // Клинич. геронтология. – 2008. – № 4. – С. 19–24.
135. Чрескожная чреспеченочная холецистостомия в лечении острого холецистита у больных с высоким операционным риском / Ш. И. Каримов [и др.] // Анналы хирург. гепатологии. – 2010. – Т 15, № 1. – С. 53–56.
136. Шейранов, Н. С. Оптимизация техники лапароскопической холецистэктомии при остром холецистите / Н. С. Шейранов, А. В. Оноприев // Мед. вестн. Сев. Кавказа. – 2014. – Т. 9, № 3. – С. 227–231.
137. Шулутко, А. М. Минимально инвазивные операции при холецистохоледохолитиазе / А. М. Шулутко, [и др.] // Анналы хирург. гепатологии. – 2013. – № 1. – С. 38–41.
138. Эндоскопические возможности в лечении «свежих» повреждений желчных протоков / С. Г. Шаповальянц [и др.] // Анналы хирург. гепатологии. – 2005. – № 3. – С. 50–54.
139. Эндоскопические технологии в лечении заболеваний органов гепатопанкреатодуоденальной зоны / А. Е. Котовский [и др.] // Анналы хирург. гепатологии. – 2010. – Т. 15, № 1. – С. 9–18.
140. Эффективность применения малоинвазивных оперативных доступов при хирургическом лечении холедохолитиаза / Г. М. Рутенбург [и др.] // Эндоскоп. хирургия. – 2008. – № 1. – С. 25–29.
141. Эффективность ронколейкина в комплексном лечении гнойно-воспалительных и иммунодефицитных заболеваний / А. Р. Галимова [и др.] // Интерактив. наука. – 2016. – № 3. – С. 42–45.
142. Эффективность ронколейкина в лечении хронических рецидивирующих инфекций / Е. Р. Черных [и др.] // Мед. иммунология. – 2011. – № 2. – С. 227–236.
143. Ярилин, А. А. Цитокины в тимусе. Выработка и рецепция цитокинов // Цитокины и воспаление. – 2003. – Т. 2, № 1. – С. 3–13.

144. Ярош, А.Л. Изучение локального иммунного статуса у больных гнойным холангитом / А.Л. Ярош, Н.А. Конопля, С.В. Иванов // Современные проблемы науки и образования – 2005. – № 2. – С. 96.
145. Acute cholecystitis in elderly patients: A case for early cholecystectomy / C.S. Loozen [et al.] // J. Visc. Surg. – 2017. – Vol. 17. – P. 130–133.
146. Acute cholecystitis in high-risk patients: Percutaneous Cholecystostomy conservative treatment / N. Hatzidakis [et al.] // Eur. Radio. – 2002. – Vol. 12, Iss. 7. – P. 1778–1784.
147. Acute gallstone cholecystitis in the elderly: treatment with emergency ultrasonographic percutaneous cholecystostomy and interval laparoscopic cholecystectomy / A. Macri [et al.] // Surg. Endosc. – 2006. – Vol. 20, Iss. 1. – P. 88–91.
148. Altmeir, G. Die acute cholecystitis // Chirurg. – 2001. – Vol. 52, Iss. 3. – P. 450–453.
149. Antoniou, S.A. Single-incision laparoscopic cholecystectomy: a systematic review / S.A. Antoniou, R. Pointner, F.A. Granderath // Surg. Endosc. – 2011. – Vol. 25, Iss. 2. – P. 367–377.
150. Bacteriological analysis of bile in acute cholecystitis according to the Tokyo guidelines / K. Asai [et al.] // J Hepatobiliary Pancreat Sci. – 2012. – Vol. 19, Iss. 4. – P. 476–486.
151. Breitbart, E. Aging and the human immune system / E. Breitbart, B. D. Stoller // Isr. Med. Assoc. J. – 2000. – Vol. 2, Iss. 9. – P. 703–707.
152. Bridge treatment for early cholecystectomy in geriatric patients with acute cholecystitis: Percutaneous cholecystostomy / S. Zeren [et al.] // Ulus. Travma. Acil. Cerrahi. Derg. – 2017. – Vol. 23, Iss. 6. – P. 501–506.
153. Butcher, S. Ageing and the neutrophil: no appetite for killing? / S. Butcher, H.Chahel, J. M. Lord // Immunology. – 2000. – Vol. 100, Iss. 4. – P. 411–416.
154. Can laparoscopic cholecystectomy be safely performed in the elderly / P. Caglia [et al.] // Ann. Ital. Chir. – 2012. – Vol. 81, Iss. 1. – P. 21–24.
155. Chamberlain, R. S. A comprehensive review of single-incision laparoscopic

- surgery (SILS) and natural orifice transluminal endoscopic surgery (NOTES) techniques for cholecystectomy / R. S. Chamberlain, S. V. Sakpal // *J. Gastrointest. Surg.* – 2009. – Vol. 13, Iss. 9. – P. 1733–1740.
156. Comparison of cholecystectomy and percutaneous cholecystostomy in acute cholecystitis: results of a retrospective study / A. La Greca [et al.] // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* – 2017. – Vol. 21, Iss. 20. – P. 4668–4674.
157. Comparison of laparoscopic cholecystectomy for acute cholecystitis within and beyond 72 h of symptom onset during emergency admissions / Zhu B., Zhang Z., Wang Y. et al. // *World J. Surg.* – 2012. – Vol. 36, Iss. 11. – P. 2654–2658.
158. Cytokines in immunogenic cell death: Applications for cancer immunotherapy / A. Showalter [et al.] // *Cytokine.* – 2017. – Vol. 97 – P. 123–132.
159. Deficiencies of Circulating Mucosal-associated Invariant T Cells and Natural Killer T Cells in Patients with Acute Cholecystitis / J. C. Kim [et al.] // *J. Korean Med. Sci.* – 2015. – Vol. 30, Iss. 5. – P. 606–611.
160. Dhupkar, P. Interleukin-2: Old and New Approaches to Enhance Immune-Therapeutic Efficacy / P. Dhupkar, N. Gordon // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2017. – Vol. 995. – P. 33–51.
161. Doersch, K. M. The contribution of interleukin-2 to effective wound healing / K. M. Doersch, D. J. DelloStritto, M. K. Newell-Rogers // *Exp. Biol. Med.* – 2017. – Vol. 242, Iss. 4. – P. 384–396.
162. Early laparoscopic cholecystectomy for acute gangrenous cholecystitis / T. Tsushimi [et al.] // *Surg. Laparosc. Endosc. Percutan. Tech.* – 2007. – Vol. 17, Iss. 1. – P. 14–18.
163. Enhanced suicidal erythrocyte death contributing to anemia in the elderly / A. Lupescu [et al.] // *Cell. Physiol. Biochem.* – 2015. – Vol. 36, Iss. 2. – P. 773–783.
164. Failure to perform cholecystectomy for acute cholecystitis in elderly patients is associated with increased morbidity, mortality, and cost / T. S. Riall [et al.] // *J. Am. Coll. Surg.* – 2010. – Vol. 210, Iss. 5. – P. 668–679.

165. Gallstone-related disease in the elderly: is there room for improvement / F.J. García-Alonso [et al.] // *Dig. Dis. Sci.* – 2015. – Vol. 60, Iss. 6. – P. 1770–1777.
166. Géczi, L. Immunotherapy of renal cell cancer / L. Géczi, K. Nagyiványi, A. Maráz // *Magy. Onkol.* – 2017. – Vol. 61, Iss. 2. – P. 126–131.
167. Impact of delayed laparoscopic cholecystectomy after percutaneous transhepatic gallbladder drainage for patients with complicated acute cholecystitis / O. H. Kim [et al.] // *Surg. Laparosc. Endosc. Percutan.* – 2009. – Vol. 19, Iss. 1. – P. 20–24.
168. Interleukin-2 is present in human blood vessels and released in biologically active form by heparanase / J. D. Miller [et al.] // *Immunol. Cell. Biol.* – 2012. – Vol. 90, Iss. 2. – P. 159–167.
169. Kelsall, B. Interleukin-10 in inflammatory bowel disease // *N. Engl. J. Med.* – 2009. – Vol. 361, No 21. – P. 2091–2093.
170. Laparoscopic cholecystectomy for elderly patients: gold standard for golden years? / J. Bingener [et al.] // *Arch. Surg.* – 2003. – Vol. 138, № 5. – C. 531–535.
171. Laparoscopic cholecystectomy for severe acute cholecystitis: a meta-analysis of results / G. Borzellino [et al.] // *Surg Endosc.* – 2008. – Vol. 22, Iss. 1. – P. 8–15.
172. Laparoscopic cholecystectomy in elderly patients: an evaluation of immunity / H. Q. Zhao [et al.] // *Aging Clin. Exp. Res.* – 2015. – Vol. 27, Iss. 6. – P. 927–933.
173. Laparoscopic cholecystectomy in elderly patients: an evaluation of immunity / H.Q. Zhao [et al.] // *Aging Clin. Exp. Res.* – 2015. – Vol. 27, Iss. 6. – P. 927–933.
174. Long-term biliary function after reconstruction of major bile duct injuries with hepaticoduodenostomy or hepaticojejunostomy / R. J. Moraca [et al.] // *Arch. Surg.* – 2002. – Vol. 137, Iss. 8. – P. 889–894.
175. Marabondo, S. High-dose interleukin-2 (IL-2) for the treatment of melanoma: safety considerations and future directions / S. Marabondo, H. L. Kaufman // *Expert. Opin. Drug. Saf.* – 2017. – Vol. 16, Iss. 12. – P. 1347–1357.
176. Meta-analysis of randomized control trials on the safety and effectiveness of early versus delayed laparoscopic cholecystectomy for acute cholecystitis / K.

- Gurusamy [et al.] // *Br. J. Surg.* – 2010. – Vol. 97, Iss. 2. – P. 141–150.
177. National Trends in the Adoption of Laparoscopic Cholecystectomy over 7 Years in the United States and Impact of Laparoscopic Approaches Stratified by Age / A. Dua [et al.] // *Minim. Invasive. Surg.* – 2014. – Vol. 2014: 635461.
178. Oncolytic Adenoviruses Armed with Tumor Necrosis Factor Alpha and Interleukin-2 Enable Successful Adoptive Cell Therapy / R. Havunen [et al.] // *Mol. Ther. Oncolytics.* – 2017. – Vol. 31, Iss. 4. – P. 77–86.
179. Optimal timing for performing percutaneous transhepatic gallbladder drainage and subsequent cholecystectomy for better management of acute cholecystitis / K. Yamada [et al.] // *J. Hepatobiliary Pancreat. Sci.* – 2015. – Vol. 22, Iss. 12. – P. 855–861
180. Optimal timing of cholecystectomy after percutaneous gallbladder drainage for severe cholecystitis / Koetsu Inoue [et al.] // *BMC Gastroenterol.* – 2017. – Vol. 17, Iss. 1. – P. 71.
181. Outcome comparison between percutaneous cholecystostomy and cholecystectomy: a 10-year population-based analysis / P. Lu [et al.] // *BMC Surg.* – 2017. – Vol. 17, Iss. 1. – P. 130.
182. Percutaneous cholecystostomy for high-risk patients with acute cholecystitis / K. Welschbillig-Meunier [et al.] // *Surg. Endosc.* – 2005. – Vol. 19, Iss. 9. – P. 1256–1259.
183. Percutaneous cholecystostomy in the management of acute cholecystitis / W. M. Teoh [et al.] // *J. Surg.* – 2005. – Vol. 75, Iss. 6. – P. 396–398.
184. Percutaneous cholecystostomy is appropriate as definitive treatment for acute cholecystitis in critically ill patients: a single center, cross-sectional study / Cha B. H. [et al.] // *Korean J. Gastroenterol.* – 2014. – Vol. 63, Iss. 1. – P. 32–38.
185. Percutaneous cholecystostomy without interval cholecystectomy as definitive treatment of acute cholecystitis in elderly and critically ill patients / J. Griniatsos [et al.] // *South Med. J.* – 2008. – Vol. 101, Iss. 6. – P. 586–590.
186. Philipp, S. R. Single-incision laparoscopic cholecystectomy using conventional instruments: early experience in comparison with the gold standard / S. R. Philipp,

- B. W. Miedema, K. Thaler // *J. Am. Coll. Surg.* – 2009. – Vol. 209, Iss. 5. – P. 632–637.
187. Predictors of unsuccessful mechanical lithotripsy and endoscopic clearance of large bile duct stones / Garg P.K. [et al.] // *Gastrointest Endosc.* – 2004. – Vol. 59, Iss. 6. – P. 601–605.
188. Primary cholecystectomy is feasible in elderly patients with acute cholecystitis / P.C. Ambe [et al.] // *Aging Clin. Exp. Res.* – 2015. – Vol. 27, Iss. 6. – P. 921–926.
189. Risk factors for acute cholecystitis and for intraoperative complications / O. Andercou [et al.] // *Ann. Ital. Chir.* – 2017. – Vol. 88. – P. 318–325.
190. Risk-adjusted treatment selection and outcome of patients with acute cholecystitis / J. I. Gonzalez-Munoz [et al.] // *Langenbecks Arch Surg.* – 2017. – Vol. 402, Iss. 4. – P. 607–614.
191. Role and outcomes of laparoscopic cholecystectomy in the elderly / A. Agrusa [et al.] // *Int. J. Surg.* – 2014. – Vol. 12, Iss. 2. – P. 37–39.
192. Significance and clinical applications of ultrasound score in assessing the clinical severity of acute cholecystitis in the elderly / L. Zhang [et al.] // *Aging Clin. Exp. Res.* – 2015. – Vol. 27, Iss. 1. – P. 21–26.
193. Single port access laparoscopic Cholecystectomy / P. Bucher [et al.] // *World J. Surg.* – 2009. – Vol. 33, Iss. 5. – P. 1015–1019.
194. Smith, G. A. IL-2R $\beta$  abundance differentially tunes IL-2 signaling dynamics in CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells / G. A. Smith, J. Taunton, A. Weiss // *Sci. Signal.* – 2017. – Vol. 10. – P. 510.
195. Surgery without scars: report of transluminal cholecystectomy in a human being / J. Marescaux [et al.] // *Arch. Surg.* – 2007. – Vol. 142, Iss. 9. – P. 823–826.
196. Systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials comparing single-incision versus conventional laparoscopic cholecystectomy / S. Trastulli [et al.] // *Br. J. Surg.* – 2013. – Vol. 100, Iss. 2. – P. 191–208.

197. Tambyraja, A. L. Outcome of laparoscopic cholecystectomy in patients 80 years and older / A. L. Tambyraja, S. Kumar, S. J. Nixon // World J. Surg. – 2004. – Vol. 28, Iss. 8. – P. 745–748.
198. The Role of High Dose Interleukin-2 in the Era of Targeted Therapy / J. Gills [et al.] // J. Urol. – 2017. – Vol. 198, Iss. 3. – P. 538–545.
199. Xu, L. N. Effect of histone deacetylase inhibitor on proliferation of biliary tract cancer cell lines / L. N. Xu, X. Wang, S. Q. Zou // World J. Gastroenterol. – 2008. – Vol. 14, Iss. 16. – P. 2578–2581.