

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 616.36-089.87:615.832.9]-07:616.151.5

Уразова О. И., Пчелинцева Е. В., Лызко И. А., Альперович Б. И., Мерзликин Н. В., Новицкий В. В., Судакова Ю. В.

ПОКАЗАТЕЛИ КОАГУЛЯЦИОННОГО ГЕМОСТАЗА ПОСЛЕ КРИОРЕЗЕКЦИИ ПЕЧЕНИ

ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, 643055, г. Томск

В статье приводятся данные сравнительной оценки показателей коагуляционного гемостаза у 24 больных с очаговой паразитарной и непаразитарной патологией печени до и после резекции органа с применением криовоздействия и без такового (традиционный метод резекции печени). Анализ состояния коагуляционного гемостаза выполнен на основе результатов клоттинговых тестов и иммуноферментного метода определения содержания факторов V, XI, XII в плазме крови. Показано, что после криорезекции печени тенденция к нормализации содержания факторов V и XI более выражена, чем при традиционной резекции органа. При этом у больных с непаразитарными заболеваниями печени после криорезекции исходно пониженная концентрация фактора XI нормализуется, а содержание фактора XII сохраняется в пределах нормы при его понижении у больных после резекции без холодого воздействия. Плазменная концентрация фибриногена соответствует норме. Наиболее значимые отклонения международного нормализованного отношения (увеличение свыше референсных значений) и активированного парциального тромбопластинового времени (сокращение до референсных значений) у больных с паразитарными и непаразитарными заболеваниями печени отмечаются на 5-е сутки после резекции независимо от ее метода (с применением холода или без криовоздействия).

Ключевые слова: коагуляционный гемостаз; плазменные факторы свертывания; резекция печени; криохирургия; очаговая патология печени.

Urazova O.I., Pchelintseva E.V., Lizko I.A., Alperovich B.I., Merzlikin N.V., Novitskii V.V., Sudakova Yu.V.

THE INDICATORS OF COAGULATION HEMOSTASIS AFTER CRIO-RESECTION OF LIVER

The Siberian state medical university of Minzdrav of Russia, 643055 Tomsk, Russia

The article presents results of comparative evaluation of indicators of coagulation hemostasis in 24 patients with focal parasitic and non-parasitic pathology of liver before and after resection of organ with and without frigotherapy. The analysis of condition of coagulation hemostasis was implemented on the basis of results of blood clotting tests and immune enzyme technique of detection of content of factors V, XI, XII in blood plasma. It is demonstrated that after crio-resection of liver the tendency to normalization of content of factors V and XI is more expressed than in case of common resection of organ. At that, in patients with non-parasitic diseases of liver after crio-resection initially decreased concentration of factor XI is normalized and content of factor XII keeps to be in limits of normality under its decreasing in patients after resection without frigotherapy. The plasma concentration of fibrinogen corresponds to standard. The most significant departures of international normalized ratio (increasing higher than reference values) and activated partial thromboplastin time (decreasing up to reference values) in patients with parasitic and non-parasitic diseases of liver are observed at 5th day after resection independently of technique applied (with or without frigotherapy).

Key words: coagulation hemostasis; plasma factor of coagulation; resection of liver; crio-surgery; focal pathology of liver

Введение. Резекция на настоящий момент считается радикальным методом лечения при очаговой патологии печени. В то же время выполнение обширных резекций печени сопряжено с высоким риском развития послеоперационных кровотечений и печеночной недостаточности. На их развитие влияют такие факторы, как длительность операции и выключения печени из кровообращения, объем резекции, объем интраоперационной кровопотери и др. [1–4]. Одна из основных функций печени – белоксинтезирующая, в том числе синтез факторов свертывания крови и их ингибиторов [4, 5]. Патология плазменного (коагуляционного) гемостаза и развитие геморрагического синдрома – одно из проявлений дисфункции печени в послеоперационном периоде [3, 4]. В связи с этим актуальным являются совершенствование техники резекций и внедрение современных технологий, в том числе использование криохирургических инструментов (криодеструктор, криоскальпель) с целью минимизации осложнений, профилактики рецидивов и сокращения сроков морфологической и функциональной регенерации печени в послеоперационном периоде.

Для корреспонденции:

Уразова Ольга Ивановна, д-р мед. наук, проф. каф. патофизиологии
Адрес: 643055, Томск, пр-кт Академический, 17/77
E-mail: Urazova72@yandex.ru

Цель исследования – оценить показатели коагуляционного гемостаза у больных с очаговой патологией печени после резекции органа с применением криовоздействия и без такового (традиционный метод резекции печени).

Материалы и методы. Обследованы 12 больных (7 мужчин и 5 женщин) с паразитарными заболеваниями печени (эхинококкоз, альвеококкоз) (1-я группа) и 12 (4 мужчины и 8 женщин) с непаразитарной очаговой патологией печени (аденома, рак, непаразитарные кисты) (2-я группа) в возрасте 20–55 лет, находящихся на лечении в хирургическом отделении ОГАУЗ «Городская клиническая больница № 3» (Томск). У одной половины больных 1-й и 2-й групп резекцию печени осуществляли с применением холода (криорезекция печени или резекция печени, дополненная криодеструкцией ее культуры), у другой – традиционным методом (без криовоздействия). У всех больных, участвовавших в исследовании, произвели резекцию правой либо левой доли печени (в зависимости от локализации патологического очага). Для холодого воздействия при резекции печени, дополненной криодеструкцией, использовали криоинструменты на основе пористого никелида титана (НИИ медицинских материалов и имплантатов с памятью формы Сибирского физико-технического института при Томском государственном университете, Томск), для криорезекции печени – криовиброскальпель или криоультразвуковой скальпель (ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, Томск). Все пациенты были госпитализированы и прооперированы

в плановом порядке. Исследования проводили до операции и на 1-е и 2-е сутки, после нее. Критериями исключения больных из исследования стали сопутствующие наследственные дефекты системы гемостаза, тромбоцитопения, отсутствие информированного добровольного согласия. В послеоперационном периоде всем пациентам проводили сходное лечение, направленное на поддержание важнейших функций организма и стабилизацию гомеостаза: 1) инфузионную терапию – раствор Рингер–Локка, полиионная смесь, 5% декстроза (глюкоза) с соответствующей дозой инсулина; 2) декстран (реополиглюкин или полиглюкин) в дозе до 500 мл в сутки; 3) белковые препараты в виде одногруппной свежезамороженной плазмы либо альбумина человека; 4) преднизолон до 200 мг/сут; 5) наркотические анальгетики.

Контрольную группу составили 12 здоровых лиц сопоставимого пола и возраста.

Материалом для исследования служила плазма, полученная из 2 мл периферической венозной крови, стабилизированной цитратом натрия. Содержания фибриногена (в г/л), активированного парциального (частичного) тромбопластинного времени (АПТВ; в с) и международного нормализованного отношения (МНО; отношение протромбинового времени (в с) больного и контрольной нормальной плазмы с учетом чувствительности тромбопластина) проводили с использованием полуавтоматического 4-канального коагулометра «Helena C-4» (Helena Bioscience Europe, Великобритания). Концентрацию плазменных факторов V, XI и XII в плазме крови оценивали с помощью твердофазного иммуноферментного метода (ELISA), согласно протоколам фирмы-производителя реагентов (AssayPro, США). Оптическую плотность содержимого ячеек планшета регистрировали на фотометре-анализаторе «Multiscan EX» (ThermoLabsystems, Финляндия) при длине волны 450 нм. Результаты выражали в мкг/мл.

Статистический анализ полученных результатов осуществляли с помощью пакета прикладных программ SPSS Statistics (Version 17) (SPSS Inc., США). Проверку на соответствие выборочных данных нормальному закону распределения проводили с помощью критерия Шапиро–Вилка. При нормальном распределении попарное сравнение зависимых и независимых выборок (показатели клоттинговых тестов) осуществляли с использованием *t*-критерия Стьюдента. При несоответствии выборок нормальному закону распределения (результаты иммуноферментного анализа) для попарного их сравнения применяли непараметрические критерии: U-критерий Манна–Уитни (для независимых выборок) и T-критерий Вилкоксона (для зависимых выборок). Различия считали достоверными при уровне значимости 0,05.

Результаты и обсуждение. В результате исследования у пациентов с очаговой патологией печени вне зависимости от ее этиологии (паразитарная или непаразитарная) регистрировали повышение в плазме крови содержания фактора V (см. таблицу). Содержание фибриногена (фактор I) в крови у больных с паразитарными заболеваниями печени соответствовало норме. В то же время у больных с непаразитарной очаговой патологией печени оно было повышенным (см. таблицу), что могло быть следствием опухолевого процесса [5, 6], поскольку во 2-й группе у 8 из 12 больных диагностировали доброкачественные и злокачественные опухолевые заболевания печени.

Одновременно с этим отметили снижение плазменной концентрации факторов контактзависимого (внутреннего) механизма активации коагуляционного гемостаза – XI и XII (только при паразитарных заболеваниях печени) (см. таблицу). Возможно, дефицит фактора XII при паразитарных заболеваниях печени связан с характерной для больных с данной патологией гиперсекрецией провоспалительного интерлейкина-6 (IL-6), который (в отличие от большинства других провоспалительных цитокинов) способен подавлять синтез фактора XII в печени [7, 8]. Действительно по результатам проведенных нами иммунологических исследований у

обследованных в данной работе пациентов с эхинококкозом и альвеококкозом печени его содержание в сыворотке крови оказалось повышенным (15,5 (5,615–19,4) пг/мл при 6,209 (5,835–6,735) пг/мл у здоровых лиц; $p < 0,05$).

Показатели АПТВ ($34,84 \pm 2,33$ с) и МНО ($1,376 \pm 0,589$) до операции в обеих группах не претерпевали статистически значимых отклонений от нормы, что, по-видимому, объясняется тем, что они характеризуют состояние гемокоагуляции (т. е. дефицит факторов внутреннего или внешнего ее каскадных механизмов) в целом. Кроме того, показано, что АПТВ проявляет чувствительность к дефициту факторов XI и XII только при уровне их активности 20% и ниже (при 70–130% в норме) [9, 10].

После операции (на 1-е и 5-е сутки) у больных с резекцией печени зарегистрировали снижение содержания фактора V относительно его дооперационных значений с более выраженной тенденцией к нормализации у больных с паразитарными заболеваниями печени по сравнению с таковой у пациентов с очаговой непаразитарной патологией органа. Достоверных различий по содержанию фактора V в плазме крови в зависимости от вида хирургического вмешательства не обнаружили, однако в среднем у больных с криорезекцией печени оно было ниже, чем у здоровых лиц (см. таблицу).

Участье фактора V (проакцелирин) в свертывании крови, как известно, проявляется его способностью повышать скорость превращения протромбина в тромбин и стабилизировать протромбиназный комплекс, образующийся на поверхности фосфолипидных мембран поврежденных клеток, активированных тромбоцитов и их везикул [6]. Основное место его синтеза, равно как и других исследованных в работе факторов I (фибриноген), XI (плазменный предшественник тромбопластина) и XII (фактор Хагемана), – печень. Более выраженная тенденция к нормализации содержания фактора V в плазме крови у больных с очаговой патологией печени после криорезекции может рассматриваться как следствие холодового воздействия. Криовоздействие облегчает проведение резекции печени, так как способствует гемостазу в области мелких сосудов по плоскости пересечения, создавая тем самым оптимальные условия для лигирования крупных сосудов, существенно уменьшает кровопотерю, предупреждает развитие выраженных нарушений регионального кровотока и системной гемодинамики и как следствие печеночной недостаточности. Кроме того, применение холода обеспечивает профилактику кровотечений вследствие неполноценного гемостаза раневой поверхности в ближайшие сроки после операции, усиливает процессы репаративной регенерации, оказывает благоприятное влияние на течение воспалительного процесса [2–4]. Последнее также актуально при послеоперационных нарушениях гемостаза, поскольку при хирургических манипуляциях на печени в кровь высвобождаются биологически активные вещества (медиаторы воспаления), которые оказывают модулирующее влияние на свертывающую и противосвертывающую системы крови [4, 7].

Что касается МНО, чувствительного к дефициту факторов протромбинового комплекса (VII, X, V, II), то его величина после гепаторезекции повышалась в сравнении с таковой в период до операции и нормой (свыше 1,4; $p < 0,05$), что соответствует гипокоагуляции. Наиболее значимым оно было на 5-е сутки после операции (около 1,7; $p < 0,001$) вне зависимости от метода резекции – с применением холода или без криовоздействия. АПТВ при этом претерпевало обратную динамику с максимальным его понижением ($p < 0,05$) у больных с паразитарной и непаразитарной очаговой патологией печени (около 32 с, т. е. в пределах референсных значений – 28,6–33,6 с) также на 5-е сутки после как криорезекции, так и традиционной резекции органа, что, по-видимому, могло быть связано с изменением содержания плазменных факторов контактзависимого пути активации свертывания крови в послеоперационном периоде.

Так, содержание фактора XI в послеоперационном периоде проявляло более выраженную тенденцию к нормализации

Концентрация факторов V, XI, XII (Me (Q1–Q3)) и фибриногена ($\bar{X} \pm m$) в плазме крови у больных с очаговой патологией до и после резекции в зависимости от ее метода и этиологического варианта заболевания

Показатель	Здоровые лица	Сроки исследования	Паразитарные заболевания печени		Непаразитарные заболевания печени	
			резекция с применением криовоздействия	резекция без криовоздействия	резекция с применением криовоздействия	резекция без криовоздействия
Фактор V, мкг/мл	9,080 (8,800–9,760)	До операции	40,64 (29,92–52,52) $p < 0,001$		35,24 (22,60–41,60) $p < 0,001$	
		1-е сутки после операции	16,32 (14,92–22,40) $p < 0,001$ $p_{0,1} = 0,018$	25,04 (23,52–27,92) $p = 0,002$ $p_{0,1} = 0,043$ $p_{\kappa} = 0,050$	15,56 (11,76–43,52) $p = 0,001$	23,72 (17,44–31,12) $p = 0,001$
		5-е сутки после операции	15,84 (12,56–18,76) $p = 0,002$ $p_{0,5} = 0,018$	18,16 (15,20–33,84) $p = 0,002$ $p_{0,5} = 0,043$	22,20 (9,520–27,52) $p = 0,035$	27,12 (19,12–35,92) $p = 0,001$ $p_{0,5} = 0,046$
		До операции	0,415 (0,230–0,985) $p < 0,001$		1,125 (0,495–1,605) $p < 0,001$	
		1-е сутки после операции	1,540 (1,520–1,920) $p < 0,001$	0,430 (0,400–0,520) $p = 0,002$ $p_{\kappa} = 0,004$	5,915 (1,490–7,590) $p_{0,1} = 0,028$	2,295 (0,340–2,400) $p = 0,001$
		5-е сутки после операции	2,110 (1,010–3,970) $p = 0,022$	0,290 (0,260–0,530) $p = 0,002$ $p_{\kappa} = 0,029$	3,465 (0,500–8,500)	0,290 (0,210–0,710) $p = 0,001$ $p_{\kappa} = 0,025$
Фактор XII, мкг/мл	12,63 (11,13–20,62)	До операции	8,975 (7,005–10,145) $p = 0,001$		10,71 (8,635–12,53)	
		1-е сутки после операции	8,420 (8,105–11,150) $p = 0,022$	9,260 (6,290–9,400) $p = 0,004$	22,41 (6,730–27,760)	8,385 (7,170–9,490) $p = 0,003$
		5-е сутки после операции	7,490 (6,620–8,085) $p = 0,001$	8,410 (7,580–8,830) $p = 0,011$	11,57 (9,070–15,120)	9,880 (8,690–11,050) $p = 0,015$
Фибриноген, г/л	2,967 ± 0,394	До операции	2,908 ± 0,937		4,358 ± 0,683 $p < 0,001$	
		1-е сутки после операции	3,829 ± 1,090	3,060 ± 0,723	3,433 ± 0,509	3,283 ± 1,099
		5-е сутки после операции	3,029 ± 0,816	3,080 ± 0,963	3,633 ± 0,339	3,733 ± 0,868

Примечание. p – по сравнению с показателями у здоровых лиц (контроль); $p_{0,1}$ – до операции и на 1-е сутки после операции; $p_{0,5}$ – до операции и на 5-е сутки после операции; p_{κ} – по сравнению с показателями у больных после резекции печени с применением криовоздействия.

у больных с криорезекцией печени с полным восстановлением своих значений у больных с непаразитарными заболеваниями печени уже на 1-е сутки после операции. При резекции с применением холода вне зависимости от этиологии заболевания печени на соответствующем этапе исследования оно было выше, чем у больных, прооперированных традиционным методом (см. таблицу). Плазменная концентрация фактора XII в послеоперационном периоде у больных с паразитарными

заболеваниями печени независимо от метода хирургического лечения существенно не изменялась и оставалась ниже, чем у здоровых лиц. Вместе с тем у больных с непаразитарными заболеваниями печени после резекции без применения криовоздействия содержание фактора XII в плазме крови (исходно соответствующее норме) понижалось, в то время как при криорезекции печени оно сохранялось без статистически значимых отклонений (см. таблицу). Концентрация фибриногена в

крови после резекции независимо от метода ее проведения у больных с паразитарными заболеваниями печени не претерпела выраженных изменений и сохранялась в пределах нормы, в то время как у пациентов с непаразитарной патологией органа (исходно повышенная) она нормализовалась.

Полученные результаты характеризуют преимущество метода криорезекции в отношении профилактики геморрагических послеоперационных осложнений, связанных с нарушением гемостатической функции печени. При недостаточности фактора XI, как известно, риск послеоперационных кровотечений существенно увеличивается вследствие нарушения активации фактора IX [6, 10]. Несмотря на то что важным условием для проявления прокоагулянтной активности фактора XI является его связывание с высокомолекулярным кининогеном (именно в связанной форме он может активироваться фактором XIIIa) или тромбином, показано, что связанный активированный фактор XI (XIa) может активировать фактор IX, вызывая его ограниченный протеолиз, с той же эффективностью, что и несвязанный. Это подтверждает важную роль фактора XI (XIa) в каскаде реакций внутреннего механизма коагуляционного гемостаза [6, 11, 12]. Кроме того, при активации тромбином фактор XIa способен оказывать тормозное влияние на фибринолиз, индуцированный тканевым активатором плазминогена [6].

Что касается фактора XII, концентрация которого в крови у больных с паразитарной и непаразитарной очаговой патологией печени после традиционной резекции была пониженной, то следует учитывать, что он играет ключевую роль в функционировании нескольких систем: калликреинкининовой, фибринолиза и коагуляции [5, 10]. Роль фактора XII в физиологическом гемостазе долгое время подвергалась сомнению в связи со случаями развития склонности к тромбозам при его дефиците. При недостаточности фактора XII, как правило, склонность к кровоточивости отсутствует, но имеет место удлинение времени свертывания крови в связи с тем, что в комплексе с активированным высокомолекулярным кининогеном фактор XIIIa опосредует протеолитическую активацию фактора XI, который является его основным субстратом в плазме крови и конечным специфическим звеном в контактной фазе гемокоагуляции. В настоящее время доказано строгое соответствие между выраженностью нарушений свертываемости крови и уровнем дефицита фактора XII в крови: при резко выраженной гипокоагуляции в плазме он не превышает 2%, при умеренной – варьирует от 3 до 9% [6, 10]. Этот факт, а также риск тромбозомболических осложнений в случае дефицита фактора XII следует учитывать при хирургических вмешательствах.

Заключение. В период после криорезекции печени тенденция к нормализации содержания факторов свертывания крови V и XI, отражающая состояние гемостатической функции органа, является более выраженной, чем при использовании традиционного метода резекции. При этом у больных с непаразитарными заболеваниями печени после криорезекции исходно пониженная концентрация фактора XI в плазме крови нормализуется, а содержание фактора XII сохраняется (как и до хирургического вмешательства) в пределах нормы при существенном его понижении у больных после резекции без использования холододового воздействия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Альперович Б. И. Криохирургия заболеваний печени. Бюллетень сибирской медицины. 2006; 1: 9–15.
2. Альперович Б. И., Потапов А. В., Сало В. Н. Криохирургия печени в эксперименте и клинике. Бюллетень сибирской медицины. 2003; 3: 56–61.

3. Альперович Б. И. Хирургия печени. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010.
4. Мерзликлин Н. В., ред. Руководство по хирургии очаговых паразитарных заболеваний печени. Томск: Изд-во «Печатная мануфактура»; 2013.
5. Кузник Б. И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии. Чита: Экспресс-издательство; 2010.
6. Зубаиров Д. М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования. Казань: ФЭН; 2000.
7. Кузник Б. И. Цитокины и система гемостаза. II. Цитокины и коагуляционный гемостаз. Тромбоз, гемостаз и реология. 2013; 3(51): 9–29.
8. Citarella F., Felici A., Brouwer M., Wagstaff J., Fantoni A., Hack C. E. Interleukin-6 downregulates factor XII production by human hepatoma cell line (HepG2). Blood. 1997; 90(4): 1501–7.
9. Баркаган З. С., Момот А. П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. М.: Изд-во «Ньюдиамед», 2001.
10. Мамаев А. Н. Коагулопатии: руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2012.
11. Mauron T., Lammle B., Wuillemin W. A. High molecular weight kininogen is cleaved by FXIa at three sites: Arg409-Arg410, Lys502-Thr503 and Lys325-Lys326. Thromb. Haemost. 2000; 83(5): 709–14.
12. Von dem Borne P. A., Koppelman S. J., Bouma B. N., Meijers J. S. Surface independent factor XI activation by thrombin in the presence of high molecular weight kininogen. Thromb. Haemost. 1994; 72(3): 397–402.

REFERENCE

1. Al'perovich B. I. Cryosurgery of hepatic diseases. Bjulleten' sibirskoi meditsiny. 2006; 1: 9–15. (in Russian)
2. Al'perovich B. I., Potapov A. V., Salo V. N. Hepatic cryosurgery in experiment and clinic. Bjulleten' sibirskoi meditsiny. 2003; 3: 56–61. (in Russian)
3. Al'perovich B. I. Hepatic surgery. M.: GJeOTAR-Media, 2010. (in Russian)
4. Merzliklin N. V., ed. Guide to surgery of focal parasitic hepatic diseases. Tomsk: Izdatel'stvo "Pechatnaya manufaktura"; 2013. (in Russian)
5. Kuznik B. I. Cellular and molecular mechanisms of hemostasis system regulation in norm and pathology. Chita: Ekspress-izdatel'stvo; 2010. (in Russian)
6. Zubairov D. M. Molecular bases of blood clotting and thrombosis. Kazan': FJeN; 2000. (in Russian)
7. Kuznik B. I. Cytokines and hemostasis system. II. Cytokines and coagulation hemostasis. Tromboz, gemostaz i reologiya. 2013; 3(51): 9–29. (in Russian)
8. Citarella F., Felici A., Brouwer M., Wagstaff J., Fantoni A., Hack C. E. Interleukin-6 downregulates factor XII production by human hepatoma cell line (HepG2). Blood. 1997; 90(4): 1501–07.
9. Barkagan Z. S., Momot A. P. Diagnosis and controlled therapy of hemostasis disorders. M.: Izdatel'stvo «N'yudiamed»; 2001. (in Russian)
10. Mamaev A. N. Coagulopathy: a guide. M.: GJeOTAR-Media; 2012. (in Russian)
11. Mauron T., Lammle B., Wuillemin W. A. High molecular weight kininogen is cleaved by FXIa at three sites: Arg409-Arg410, Lys502-Thr503 and Lys325-Lys326. Thromb. Haemost. 2000; 83(5): 709–14.
12. Von dem Borne P. A., Koppelman S.J., Bouma B. N., Meijers J. S. Surface independent factor XI activation by thrombin in the presence of high molecular weight kininogen. Thromb. Haemost. 1994; 72(3): 397–402.

Поступила 12.06.14
Received 12.06.14