

А.В. ЧЕРКАССКИЙ, Н.В. БАШМАКОВА, Т.Б. ТРЕТЬЯКОВА

УДК 618.1-089.888:616.151.1

Областная клиническая больница № 1, г. Екатеринбург

Научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества, г. Екатеринбург

Взаимосвязь коагуляционного потенциала крови, мутации гена, кодирующего А-субъединицу XIII фактора свертывания (F13A1), и тяжести послеоперационного спаечного процесса органов малого таза

Черкасский Андрей Владимирович

врач гинекологического отделения

620102, г. Екатеринбург, ул. Волгоградская, д. 185, тел. (343) 351-15-27, e-mail: cherkasskiyomm@yandex.ru

Обследованы 43 пациентки в возрасте от 25 до 42 лет, которые оперировались повторно на органах малого таза по поводу трубно-перитонеального бесплодия, доброкачественных овариальных новообразований, миомы матки. Все пациентки были обследованы на генетический полиморфизм XIII фактора свертывания крови (F13:G>T). Также была исследована перитонеальная жидкость на содержание в ней фибриногена, Д-димера и активность плазминогена. Результаты исследований показали, что гомозиготный вариант мутантного аллеля гена фибринстабилизирующего фактора уменьшает тяжесть послеоперационного спаечного процесса у его носителей. Склонность к гиперкоагуляции, по данным тромбозластографии, определяет и склонность к более выраженному послеоперационному спаечному процессу придатков матки.

Ключевые слова: полиморфизм генов гемостаза, послеоперационный спаечный процесс, факторы свертывания крови, перитонеальная жидкость.

A.V. CHERKASSKIY, N.V. BASHMAKOVA, T.B. TRETYAKOVA

Regional Clinical Hospital № 1, Ekaterinburg

Research Institute of Maternity and Infancy, Ekaterinburg

Relationship building of blood coagulation, mutation of the gene encodes the A-subunit of coagulation factor XIII (F13A1) and severity of postoperative pelvic adhesions

The study included 43 patients aged 25 to 42 years, who underwent surgery to re pelvic about tubal-peritoneal infertility, benign ovarian tumors, uterine fibroids. All patients were screened for genetic polymorphisms of coagulation factor XIII (F13: G> T). The peritoneal fluid on its content of fibrinogen, D-dimer, and plasminogen activity also investigated. The results showed that homozygous mutant variant allele factor XIII in their delivery, reduces the severity of postoperative adhesions. Tendency to hypercoagulability according thromboelastography determines a tendency to a more pronounced postoperative adhesion process.

Keywords: genetic polymorphism of hemostasis, postoperative adhesions, blood clotting factors, peritoneal fluid.

Принимая во внимание постоянное увеличение числа гинекологических операций на органах малого таза, представляется актуальным вопрос формирования послеоперационных спаек, тяжести послеоперационного спаечного процесса и прогнозирования его развития. До сих пор механизмы, лежащие в основе предрасположенности к образованию более выраженных спаек у определенных

индивидуумов, чем у других, при однотипных операциях остаются не до конца изученными. Требуют дальнейшего изучения некоторые аспекты, как патогенеза, так и профилактики и лечения послеоперационных перитонеальных спаек.

Образование спаек является универсальной защитно-приспособительной реакцией организма на раздражение

брюшины, её травму, биологический смысл которой отграничить место повреждения, препятствуя распространению патологического процесса по брюшной полости. Однако, при определенных условиях, локализации, распространенности и выраженности спаек формируется спаечная болезнь брюшины, проявлением которой в гинекологической практике являются трубно-перитонеальное бесплодие, синдром тазовых болей, серозоцеле, нарушение анатомо-топографического расположения органов малого таза с нарушением их функциональной активности [1].

Абдоминальная хирургия является наиболее распространенной причиной формирования спаек, частота колеблется от 63% до 97% [2, 3, 4]. Послеоперационные спайки являются причиной, по меньшей мере, 40%-50% случаев бесплодия [1]. Кроме того, спайки могут быть причиной хронической тазовой боли, которая прекращается в 60-90% случаев после адгезиолиза [5]. Еще спайки могут изменять нормальное расположение органов брюшной полости, в связи с чем увеличивается количество случаев интраоперационных осложнений при повторных вмешательствах, обусловленных ранением полых органов.

Главный элемент в формировании спайки – фибрин. Сначала фибриноген (растворимый белок) реагирует с тромбином, создается фибрин-мономер, который затем полимеризуется. Полимер-фибрин первоначально растворим, но затем входит в контакт с фибринстабилизирующим фактором (XIII фактор свертывания крови) в присутствии ионизированного кальция и становится нерастворимым [6]. Далее уже нерастворимый фибрин-полимер связывается с крупными белками (включая фибронектин) и различными аминокислотами, и в результате получается гелеобразный матрикс из фибрина, который является каркасом для формирования спайки. Как и в других частях тела, в норме фибриновый матрикс удаляется при помощи фибринолиза. При условии нормальной активности фибринолиза в области повреждения, пролиферация фибробластов приводит к восстановлению мезотелия. Однако, при повышении адгезивных свойств, которые обеспечиваются такими факторами как кровотечение и наличие сгустков крови, выпотевание серозно-геморрагического экссудата, повышение коагуляционного и антифибринолитического потенциала перитонеальной жидкости, происходит образование и сохранение перитонеальных спаек.

Перитонеальная жидкость, в основном, образуется за счет транссудата плазмы и экссудата яичников. Она содержит в себе факторы свертывания крови и противосвертывающей системы, стероидные гормоны, цитокины, факторы роста, малое количество эритроцитов и тромбоцитов. Количество, как и состав, перитонеальной жидкости варьирует от фазы менструального цикла. Известно, что количество перитонеальной жидкости увеличивается в фолликулярную фазу, в то время как фибринолитическая и антифибринолитическая активность значительно возрастает в постовуляторный период, о которых P. Bouckaert [7] судил по измерениям плазминогена, альфа 2-антиплазмина, продуктам деградации фибрина, фибриногену и антитромбину III.

Считается, что мутация во втором экзоне гена, кодирующего А-субъединицу XIII фактора свертывания (F13A1), приводящая к аминокислотной замене Val34Leu, ведет к изменению кинетики сшивания фибрина. С помощью турбодиметрических измерений, а также применения электронной микроскопии было показано, что при мутации

34Leu фибриновые волокна более тонкие, и уменьшена их пористость. Это позволило нам предположить, что генетический полиморфизм F13A1 может быть ассоциирован со степенью тяжести послеоперационного спаечного процесса брюшины.

Полиморфный маркер Val34Leu гена F13A1 был идентифицирован и описан Y. Mikkola и соавт. в 1994 г. Мононуклеотидному полиморфизму G/T гена F13A1, расположенному в экзоне 2, соответствует аминокислотный полиморфизм Val34Leu. (8). Распространенность мутантного аллеля Т в европейской популяции 20%. В ряде исследований ученые показали протективный эффект изучаемого полиморфизма в отношении ишемической болезни сердца и острого инфаркта миокарда [9, 10].

Целью данного исследования стало изучение взаимосвязи коагуляционного потенциала крови, полиморфизма гена XIII фактора свертывания крови (F13:G>T) с выраженностью послеоперационного спаечного процесса органов малого таза у гинекологических больных.

Материал и методы

Обследованы женщины русской национальности, не имеющие родства между собой, коренные жительницы г. Екатеринбурга и Свердловской области в возрасте от 25 до 42 лет, которые оперировались повторно на органах малого таза по поводу трубно-перитонеального бесплодия, доброкачественных овариальных новообразований, миомы матки. Критериями исключения были: оперативные вмешательства в анамнезе на органах брюшной полости и малого таза по поводу гнойно-воспалительных заболеваний, пациентки с эндометриозом более 5 баллов по классификации R-AFS.

Объем выборки составил 43 человека, выборка была разделена на 2 группы. В I группу вошли 23 пациентки со среднетяжелой и тяжелой степенью спаечного процесса придатков матки, согласно классификации Американского общества фертильности, а во II группу включены 20 пациенток с легкой и умеренной степенью. Все пациентки были обследованы на генетический полиморфизм XIII фактора свертывания крови (F13:G>T), а также другие полиморфизмы генов, кодирующих факторы свертывания крови, участвующие в процессе образования спаек: фибриногена (FGB:-455 G>A), II фактора (F2: 20210 G>A), V фактора (F5: 1691 G>A), ингибитор активатора плазминогена-1 (PAI-1: - 675 5G>4G), VII фактора (F7: 10976 G>A). Материалом для молекулярно-генетического исследования послужила венозная кровь в объеме 5-6 мл, забираемая из кубитальной вены в пробирки с консервантом, содержащим раствор ЭДТА (pH=8.0). Был использован набор реагентов, протокол для выделения ДНК, ПЦР-амплификации в режиме «реального времени» и детекционное оборудование (ДТ-96) фирмы НПО «ДНК-Технология» (Россия). Для оценки общего коагуляционного потенциала использовалась тромбозластография, проводимая на приборе ROTEM фирмы Pentapharm (Германия) методом спонтанной коагуляции. Была исследована также перитонеальная жидкость на содержание в ней фибриногена, Д-димера и активность плазминогена на автоматическом коагулометре STA compact фирмы Roshe. Перитонеальная жидкость забиралась во время лапароскопии в объеме 3 мл в пробирки с цитратом натрия.

Результаты и обсуждение

Обе группы статистически достоверно не различались по возрасту, средний возраст в I группе составил 31,4±4,6 лет и 30,8±4,8 во II группе. По типу доступа при проведении



предшествующей операции также нет достоверных различий ($p > 0.05$): в I группе лапаротомически были прооперированы 65,2%, во II — 55%, а лапароскопические гинекологические операции были у 34,8% и 45% соответственно.

В ходе проведенного исследования были выявлены статистически достоверные различия в таких показателях тромбоза: CFT — общее время формирования сгустка и угол альфа — скорость формирования сгустка. Для I группы их средние значения составили $194,3 \pm 58,7$ секунды и $55,7 \pm 7,7$ градусов, а для II группы $239,6 \pm 64,9$ секунды и $50 \pm 7,1$ градус соответственно ($p < 0.05$), но все эти показатели укладываются в норму для данного вида исследования. В результате исследования пациенток I группы частота встречаемости гомозигот F13:GG составила 55,5%, гетерозигот GT — 44,5%, во II группе частота встречаемости гомозигот GG — 41,2%, гетерозигот GT — 41,2 %, а гомозигот TT в первой группе — 0%, во второй — 17,6 %, что достоверно ($p < 0.05$) их отличает. По другим полиморфизмам генов достоверных различий в исследуемых группах не получено.

Группы достоверно различались по такому признаку, как объем перенесенной ранее операции. Сальпингооариолизис в сочетании с сальпингостомией по поводу гидросальпинксов в I группе подверглись — 21,7%, во II — 0% ($p < 0.05$), и лапаротомной сальпингэктомии — 8,7% в I группе, 35% во II группе ($p < 0.05$). По другим объемам операций (кистэктомии, миомэктомии, резекции яичников) достоверных различий между группами нет ($p > 0.05$).

По содержанию фибриногена, Д-димера и активности плазминогена в перитонеальной жидкости не получено достоверных различий для первой и второй групп, данные представлены в таблице 1.

Таблица 1.
Показатели фибриногена, Д-димера и активности плазминогена перитонеальной жидкости в исследуемых группах

Группы	Фибриноген (г/л)	Д-димер (мкг/мл)	Активность плазминогена %
1-я группа	$0,69 \pm 0,24$	$8,8 \pm 7,7$	$40,6 \pm 9,6$
2-я группа	$0,63 \pm 0,16$	$11,8 \pm 8,5$	$43,9 \pm 7,6$
p	> 0.05	> 0.05	> 0.05

Примечание: p — достоверность различий.

Результаты проведенного исследования подтвердили данные других авторов (11, 12, 13), что лапароскопический доступ сам по себе не уменьшает тяжесть послеоперационного спаечного процесса по сравнению с лапаротомическим в современных условиях. Коагуляционный потенциал крови и генетический полиморфизм гена XIII фактора свертывания коррелирует со степенью тяжести послеоперационного процесса органов малого таза.

Таким образом, результаты исследований показали, что гомозиготный вариант мутантного аллеля гена фибринстабилизирующего фактора уменьшает у его носителей тяжесть послеоперационного спаечного процесса. Склонность к гиперкоагуляции, по данным тромбозаграфии, определяет и склонность к более выраженному послеоперационному спаечному процессу придатков матки. В связи с этим встает вопрос о

необходимости разработки новых эффективных методов профилактики послеоперационных спаек и разработки методов прогнозирования спаечного процесса на основе изучения роли факторов гемостаза и генов ассоциированных с ними.

ЛИТЕРАТУРА

- Кулаков В.И., Серов В.Н., Гаспаров А.С. В: Гинекология. — М.: Медицинское информационное агентство, 2006. — С. 132-133.
- Ellis H. The clinical significance of adhesions: focus on intestinal obstruction // Eur. J. Surg. Suppl. — 1997. — P. 5-9.
- Weibel M.A., Majno G. Peritoneal adhesions and their relation to abdominal surgery. A postmortem study // Am. J. Surg. — 1973. — Vol. 126. — P. 345-353.
- Menzies D., Ellis H. Intestinal obstruction from adhesions — how big is the problem? // Ann. R. Coll. Surg. Engl. — 1990. — Vol. 72. — P. 60-63.
- Duffy D.M., diZerega G.S. Adhesion controversies: pelvic pain as a cause of adhesions, crystalloids in preventing them // J. Reprod. Med. — 1996. — Vol. 41. — P. 19-26.
- diZerega G.S. Peritoneum, peritoneal healing and adhesion formation. In: diZerega GS, ed. // Peritonealsurgery. — New York: Springer, 2000. — P. 3-38.
- Bouckaert P.X., van Wersch J.W., Schellekens L.A. et al. Haemostatic and fibrinolytic properties of peritoneal fluid in the menstrual cycle // Br. J. Obstet. Gynaecol. — 1984. — Vol. 91, № 3. — P. 256-9.
- Mikkola H., Syrjala M., Rasi V. et al. Deficiency in the A-subunit of coagulation factor XIII: two novel point mutations demonstrate different effects on transcript levels // Blood. — 1994. — Vol. 84. — P. 517-525.
- Reiner A.P., Heckbert S.R., Vos H.L. et al. Genetic variants of coagulation factor XIII, postmenopausal estrogen therapy, and risk of nonfatal myocardial infarction // Blood. — 2003. — Vol. 102. — P. 25-30.
- Kohler H.P., Stickland M.H., Ossei-Gerning N. et al. Association of a common polymorphism in the factor XIII gene with myocardial infarction // Thromb. Haemost. — 1998. — Vol. 79. — P. 8-13.
- Filmar S., Gornel V., McComb P.F. Operative laparoscopy versus open abdominal surgery: a comparative study on postoperative adhesion formation in the rat model // Fertil. Steril. — 1987. — Vol. 48. — P. 486-489.
- Jorgensen J.O., Lalak N.J., Hunt D.R. Is laparoscopy associated with a lower rate of postoperative adhesions than laparotomy? A comparative study in the rabbit // Aust. N. Z. J. Surg. — 1995. — Vol. 65. — P. 342-344.
- Marana R., Luciano A.A., Muzii L., Marendino V.E., Mancuso S. Laparoscopy versus laparotomy for ovarian conservative surgery: a randomized trial in the rabbit model // Am. J. Obstet. Gynecol. — 1994. — Vol. 171. — P. 861-864.