

ПЕЧЕНЬ

Протеин С, как один из показателей функциональной активности гепатоцита при обширных резекциях печени

В. В. Егорова,
Н. А. Назаренко,
А. А. Карелин,
М. И. Титова,
В. А. Вишневский,
А. И. Курочкина,
В. А. Агафонов

Институт хирургии им.
А.В.Вишневского (дир. – акад.
РАМН В.Д. Федоров) РАМН,
Москва

В работе представлены результаты исследования плазменного уровня витамин К-зависимого антикоагулянта *протеина С* у 13 больных с очаговыми поражениями печени до и после обширных резекций печени. Выявлено снижение его уровня по сравнению с донорским на 30.1% до операции. Положительная корреляция между содержанием в плазме протеина *С* и фибриногеном ($r = 0.46$), а также *протеином С* и общим белком ($r = 0.31$) подтверждает, что содержание витамин К-зависимого белка отражает состояние белок – синтезирующей функции печени. Наиболее выраженное снижение *протеина С* отмечено в первые дни после операции (в среднем на 38.7%). Быстрое восстановление уровня *протеина С* (к 10–15 суткам после операции) при отсутствии хронического гепатита и цирроза определяется компенсаторными возможностями оставшейся функционально активной паренхимы печени.

C-Protein, as a Hepatocyte Functional Activity Indicator in Extended Liver Resections

V. V. Egorova,
N. A. Nazarenko,
A. A. Karelin,
M. I. Titova,
V. A. Vishnevsky,
A. I. Kurochkina,
V. A. Agafonov

A.V. Vishnevsky Institute of
Surgery (Director – Academician
RAMSci V.D. Fedorov), Moscow

Results of vitamin “K” dependant anticoagulant *protein “C”* plasma level assessment in 13 liver mass lesion patients before and after extended liver resections are presented in the article. The 30.1% diminished level was revealed in patients before surgery in comparison with donors. A positive correlation between the *protein “C”*, fibrinogen ($r = 0.46$) and total protein ($r = 0.31$) plasma levels confirm, that vitamin “K” dependant anticoagulant *protein “C”* plasma level reflects the condition of the liver protein synthesizing function.

The deepest decrees of the *protein “C”* level (approximately on 38.7%) is observed on first postoperative days. Rapid restoration of vitamin “K” dependant anticoagulant *protein “C”* plasma level (on 10–15th postoperative day) in patients without of chronic hepatitis and liver cirrhoses is determined with compensative capacities of the remnant functionally active liver parenchyma.

Профилактика развития острой печеночной недостаточности – один из основных моментов в хирургии обширной резекции печени. Тщательное исследование функциональных резервов печени в предоперационном периоде с использованием многофакторного анализа ее деятельности и значительного числа функциональных тестов необходимо для выявления степени поражения органа и оценки переносимости обширной резекции [13].

Одним из основных звеньев при изучении функционального состояния печени у больных с очаговыми поражениями является система гемостаза, нарушения в которой могут иметь место уже в предоперационном периоде и особенно проявляться во время или после операции вследствие потери значительной части функционирующей печеночной паренхимы, участвующей в синтезе белков системы гемостаза [3, 10–12, 22]. В работах Ш.М. Магомедова [9], М.И. Титовой [12], С.С. Саидова [11], В.А. Вишневского и соавт. [3, 4]

придается большое значение наличию в предоперационном периоде синдрома снижения синтеза факторов свертывания крови (фибриногена, факторов протромбинового комплекса, фактора XIII) и нарушениям активности специфических ферментов печени в сыворотке крови для оценки функционального состояния гепатоцита.

Известно, что заболевания печени оказывают особое влияние на витамин К-зависимые прокоагулянтные белки (факторы II, VII, IX и X). Это может быть связано как с нарушением синтеза этих факторов печенью при хроническом гепатите и циррозе печени, так и с нарушением их γ -карбоксилирования по остаткам глутамата под влиянием витамин К-зависимой γ -глутаматкарбоксилазы в клетках гепатоцеллюлярной карциномы [14, 15, 18, 25]. Это ведет к снижению в плазме уровня всех перечисленных факторов и поступлению в кровь функционально инертных (аномальных), некарбоксилированных их предшественников PIVKA (Protein induced by Vitamin K absence or

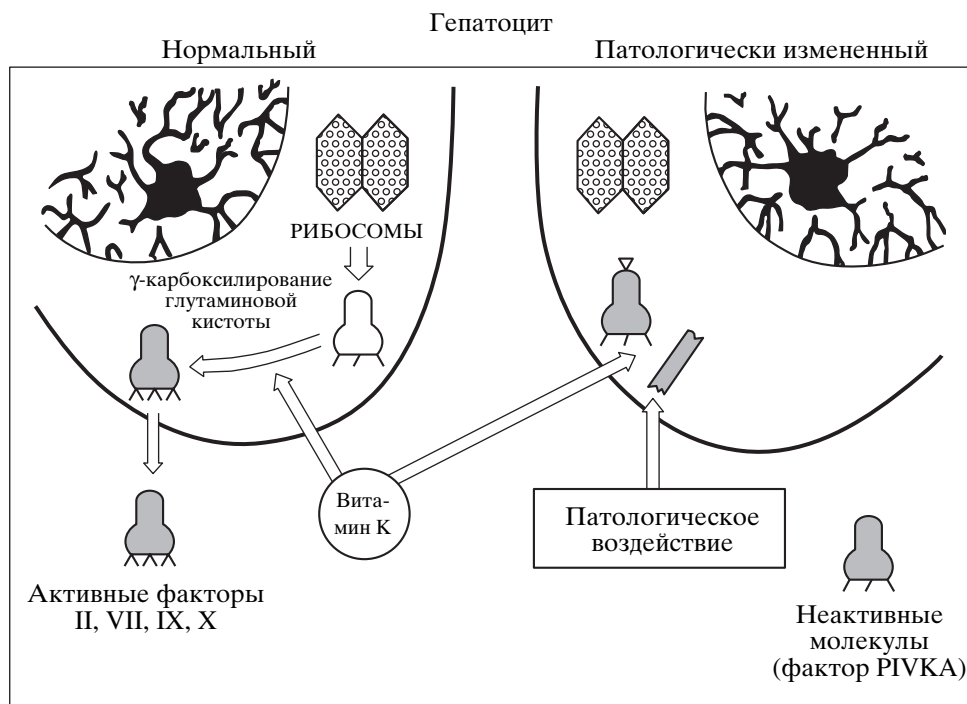


Рис. 1. Участие витамина К в синтезе факторов свертывания крови (II, VII, IX, X) в гепатоците в норме и при патологических изменениях (схема).

Энзиматическая реакция витамин К-зависимого γ -карбоксилирования глутамата превращает синтезированные на рибосомах факторы свертывания крови (II, VII, IX, X) в мощные хелаторы Ca^{2+} , благодаря чему они высвобождаются активированными. В патологически измененном гепатоците имеет место обратная ситуация.

antagonist) (рис. 1). Такой механизм нарушения свертываемости крови наблюдается при тяжелых поражениях печени, обтурационной желтухе и заболеваниях тонкой кишки [1, 2, 8].

В последнее время открыта уникально тонкая антикоагулянтная система *протеин С*–тромбомодулин–протеин *S*, которая также синтезируется при участии витамина К в гепатоцитах и инактивирует тромбин на уровне эндотелиальных клеток (рис. 2).

Новый витамин К-зависимый белок – *протеин С*, синтезируемый в печени, описал в 1976 г. J. Stenflo [21]. В дальнейшем R. Marlar и соавт. [17] показали, что в отличие от факторов коагуляции, зависящих от витамина К, активированный *протеин С* представляет собой антикоагулянтный фермент, который избирательно инактивирует активированные формы факторов V и VIII, что имеет важное значение для предупреждения внутрисосудистого свертывания крови.

Первые работы по изучению *протеина С* в клинике показали, что заболевания печени могут привести к снижению его уровня, что соответствует данным о том, что он синтезируется в печени [16, 19, 23, 24].

Результаты наших первых клинических исследований позволяют утверждать, что определение антигенной активности *протеина С* у больных с

заболеваниями печени можно использовать в клинике для оценки белковообразовательной функции печени и характеристики антикоагулянтного потенциала крови [5–7, 12]. В частности, было установлено, что степень снижения антигенной активности *протеина С* коррелировала ($r = 0.62$) с показателями нарушения белковообразовательной функции печени, изучавшейся по данным изменения в плазме крови фермента печени – псевдохолинэстеразы как индикатора белковосинтезирующей функции печени.

Это дало основание для продолжения изучения динамики плазменного уровня витамин К-зависимого антикоагулянта *протеина С* у больных с очаговыми поражениями печени, по поводу которых им была произведена обширная резекция.

Материал и методы

Исследование плазменного звена гемостаза, а также уровня *протеина С* было проведено у 13 больных с очаговыми поражениями печени до и после обширной резекции печени – в 1–3, 5–9, 10–15 и 15–21-е сутки послеоперационного периода. В группе обследованных больных было 3 мужчин и 10 женщин в возрасте от 16 лет до 71 года (средний возраст – 45.9 года). Обширная резекция выполнена по поводу гепатоцеллюлярного

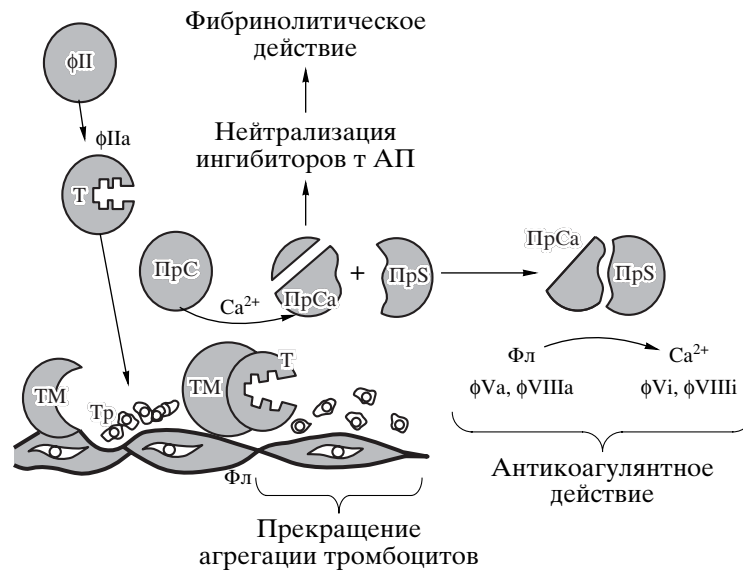


Рис. 2. Механизм действия *протеина С*. Пр С – *протеин С*, Пр S – *протеин S*, Т – *тромбин*, ТМ – *тромбомодулин*, Фл – *фосфолипид*, Ф. II, V, VIII – *факторы II, V, VIII*. Путем соединения тромбина и тромбомодулина на поверхности эндотелия сосудов возникает комплекс, который при наличии фосфолипида и ионизированного кальция активирует *протеин С*. Затем активированный *протеин С* соединяется в плазме с *протеином S*. Возникший таким образом комплекс в состоянии инактивировать активированные факторы Va и VIIIa путем ограниченного их протеолиза.

рака (1), опухоли Клатскина (2), в связи с метастазами в печень колоректального рака (3), по поводу гигантских гемангиом печени (5), паразитарных кистозных поражений печени (2). Правосторонняя гемигепатэктомия (ПГГЭ) произведена 9 пациентам, расширенная ПГГЭ – 2, резекция конфлюэнса печеночных протоков в сочетании с ПГГЭ – 1 и в сочетании с левосторонней гемигепатэктомией – 1 больному. Гладкое течение ближайшего послеоперационного периода отмечено у 11 больных, острая послеоперационная печеночная недостаточность развилась у 2 больных (с летальным исходом в 1 наблюдении).

Исследование плазменного звена гемостаза включало изучение уровня активности фибринолиза, определение концентрации фибриногена, оценку активности тромбинового времени, активированного частичного тромбопластинового времени, изучение протромбинового индекса, оценку активности антитромбина III, фактора XIII, определение концентрации тромбоцитов в крови.

Содержание *протеина С* определяли методом иммуносорбентного анализа (ELISA), с использованием специфических антител к *протеину С* (реактивы фирмы Берингер Маннхайм), а также клоттинговым методом (реактивы фирмы “Sigma”).

Для характеристики белковообразовательной функции печени у больных определяли в плазме крови уровень белка, псевдохолинэстеразы. Изучали также индикаторные ферменты (ГОТ,

ГПТ), указывающие на цитолиз и дистрофию гепатоцита.

При статистическом анализе полученных данных использовали специализированный пакет “Статистика” (Statistica for Windows 1984–1994) [20].

Результаты

Исследования показали, что у больных этой группы уже до операции отмечались признаки дисфункции гепатоцитов, характеризовавшиеся снижением синтеза фактора XIII и протромбинообразования. Так, протромбиновый индекс был снижен по сравнению с донорским с 92 ± 2.04 до $77.3 \pm 5.3\%$ ($p < 0.05$; табл. 1). Отмечено также снижение в плазме по сравнению с донорским уровня фибринстабилизирующего фактора (XIII) в среднем на 17%. Наиболее значительное снижение уровня плазменных факторов отмечено в антикоагулянтном звене. Так, уровень антитромбина III в плазме был снижен на 37.6%, уровень витамин К-зависимого антикоагулянта *протеина С* – на 30.1% по сравнению с донорским ($p < 0.05$).

У 2 больных с очаговыми поражениями печени отмечены сопутствующие изменения в виде хронического гепатита. Уровень *протеина С* в крови у этих больных был значительно ниже средних показателей во всей группе и составил до операции 32 и 12% соответственно. Резко был снижен у них и уровень второго естественного антикоагулянта антитромбина III ($AT_{III} = 45\%$).

Таблица 1. Изменения плазменных показателей гемостаза до и после обширной резекции печени

Показатель коагулограммы	Доноры	Исходные данные	День после операций			
			1–3-й	5–10-й	10–15-й	15–21-й
Фибринолитическая активность, мин	212 ± 17.0	251.5 ± 19.7	240.0 ± 14.0	240.0 ± 16.5	240.0 ± 25.7	288.0 ± 34.9
Фибриноген, г/л	2.4 ± 0.21	2.8 ± 0.2	1.9 ± 0.13*	2.2 ± 0.29	2.6 ± 0.1	3.2 ± 0.58
Активность фактора XIII, %	93.7 ± 19.6	77.8 ± 8.8	58.3 ± 9.4	41.7 ± 4.2*	56.3 ± 15.7	80.0 ± 32.9
Тромбиновое время, с	18.3 ± 1.34	19.0 ± 0.9	17.5 ± 1.4	27.7 ± 9.1	32.3 ± 13.6	24.4 ± 4.4
АЧТВ, с	32.0 ± 0.6	41.3 ± 1.6	45.5 ± 3.6	48.2 ± 3.9	50.5 ± 10.3	43.2 ± 5.5
Протромбиновый индекс, %	92.0 ± 2.04	77.3 ± 5.3**	75.1 ± 4.9	84.4 ± 5.6	71.8 ± 7.9	75.4 ± 7.6
Активность АТ _{III} , %	95.4 ± 2.13	59.5 ± 9.7**	51.8 ± 7.2	67.9 ± 9.4	54.0 ± 12.8	52.5 ± 7.4
Протеин С, %	99.5 ± 1.47	69.5 ± 8.4**	42.6 ± 8.2*	41.2 ± 6.8*	69.7 ± 14.5	53.4 ± 6.9

* Достоверные изменения ($p < 0.05$) по отношению к исходному уровню.
 ** Достоверные изменения ($p < 0.05$) исходных данных по отношению к показателям у доноров.

Нами проведен корреляционный анализ зависимости между *протеином С*, фибриногеном и рядом факторов, также синтезируемых в печени. Результаты анализа показали положительную корреляцию между содержанием в плазме *протеина С* и фибриногеном ($r = 0.46$), а также между *протеином С* и общим белком ($r = 0.31$). Коэффициент корреляции невелик, однако он достоверно отличен от нуля ($p < 0.05$), что говорит о том, что содержание витамин К-зависимого белка *протеина С* связано с состоянием белковосинтезирующей функции печени. Отрицательная связь отмечается между *протеином С* и печеночными аминотрансферазами: r (ГОТ) = -0.36 ; r (ГПТ) = -0.44 .

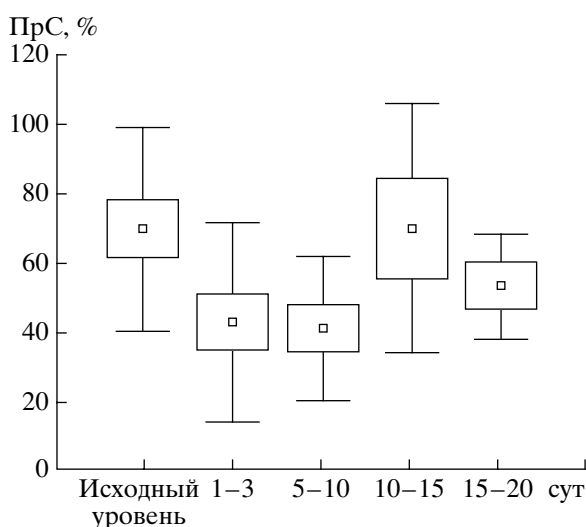


Рис. 3. Динамика уровня *протеина С* у больных после обширной резекции печени.

Послеоперационная динамика показателей гемостаза свидетельствует о значительном снижении синтеза плазменных факторов в 1–3-и сутки после обширной резекции печени. Так, на фоне торможения фибринолиза уровень фибриногена упал на 32% и составил 1.9 ± 0.13 г/л. Выявлен дефицит активности фактора XIII. Она снизилась на 25.1%. Уровень антикоагулянта АТ_{III} упал на 13%.

В первые дни после операции отмечено наиболее выраженное снижение уровня витамин К-зависимого антикоагулянта *протеина С*. Он упал на 38.7% по сравнению с дооперационным показателем и составил $42.6 \pm 8.2\%$ (рис. 3). У больных с хроническим гепатитом в послеоперационном периоде уровень *протеина С* оставался на прежних критически низких цифрах.

К 5–8-му дню после обширной резекции печени явления дисфункции гепатоцита сохранялись, о чем свидетельствовал дефицит активности фактора XIII при ее снижении до $41.7 \pm 4.2\%$. Уровень *протеина С* также оставался на прежних низких цифрах.

В дальнейшем отмечалось постепенное восстановление плазменного уровня фибриногена, АТ_{III} и *протеина С* к 10–15-му дню после операции. Активность фактора XIII восстановилась к 15–21-му дню.

Обсуждение

Так как синтез многих плазменных факторов осуществляется печеночными клетками, выявленные изменения со стороны фактора XIII, АТ_{III} и *протеина С* указывают на дисфункцию гепато-

цита после обширной резекции печени. Наиболее выраженное снижение синтеза факторов свертывания и *протеина С* наблюдалось после обширной резекции печени по поводу опухоли, развившейся на фоне хронического гепатита или цирроза. Как отмечалось ранее, уровень *протеина С* у этих больных был значительно ниже по сравнению с таковым во всей группе и оставался на критически низких цифрах в ближайшем послеоперационном периоде. Необходимо подчеркнуть, что после обширной резекции печени (при отсутствии хронического гепатита и цирроза) его уровень в крови быстро восстанавливался. Это происходило намного раньше (через 15–20 дней после операции), чем окончательное восстановление объема печени, что определяется компенсаторными возможностями оставшейся функционально активной паренхимы.

Выявленные изменения показателей гемостаза у больных после обширной резекции печени коррелировали с нарушениями биохимических показателей, отражающих функциональное состояние печени. Прежде всего это относится к нарушениям белковосинтезирующей функции печени, проявляющейся гипопроотеинемией, диспротеинемией, снижением уровня псевдохолинэстеразы. Наиболее выраженная гипопроотеинемия наблюдалась у больных в 1–3-й день после операции (рис. 4). Уровень общего белка снижался на 27,4%, составляя 55.4 ± 2.6 г/л. Одним из основных факторов, способствовавших развитию гипопроотеинемии (кроме распространенности поражения печени и обширности ее резекции), явилась массивная интраоперационная кровопотеря.

С 5-го дня послеоперационного периода уровень белка сыворотки крови начинал повышаться и к 15–21-му дню приближался к исходным показателям.

Изменениям в послеоперационном периоде были подвержены и показатели индикаторных ферментов (ГОТ и ГПТ), что свидетельствовало о цитолизе и дистрофии гепатоцитов. Отмечено значительное возрастание их активности в 1–3-и сутки после операции (рис. 5). Так, активность ГОТ у больных увеличилась в среднем в 5,8 раза, активность ГПТ – в 4 раза. В дальнейшем уровень этих ферментов начинал падать. Уровень ГОТ приблизился к исходному на 15–21-е сутки, уровень ГПТ оставался еще увеличенным в это время в 2 раза (табл. 2).

Резкое снижение плазменного уровня естественного антикоагулянта *протеина С* в послеоперационном периоде указывает также на продуцирование внутрисосудистого тромбина в значительном количестве и развитие гиперкоагуляционных реакций, что в определенной степени можно объ-

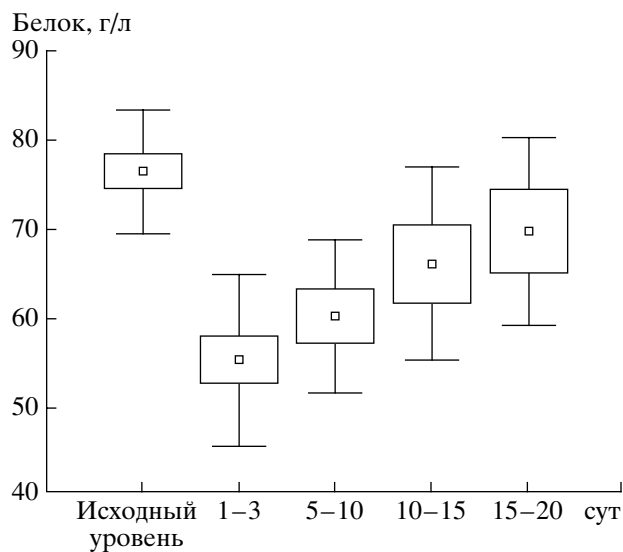


Рис. 4. Динамика уровня белка плазмы у больных после обширной резекции печени.

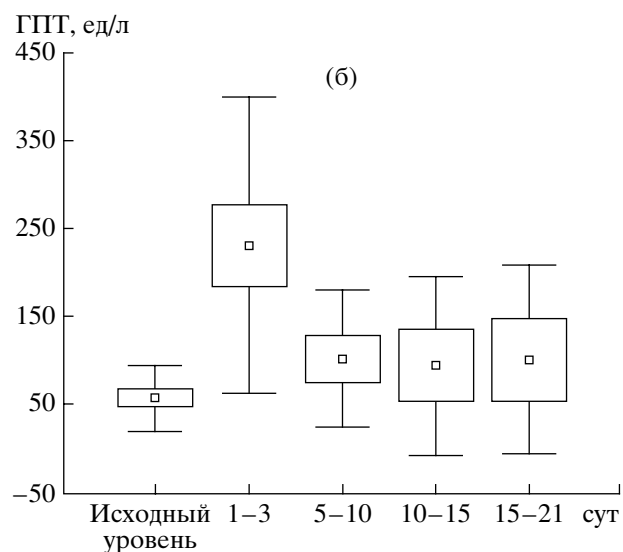
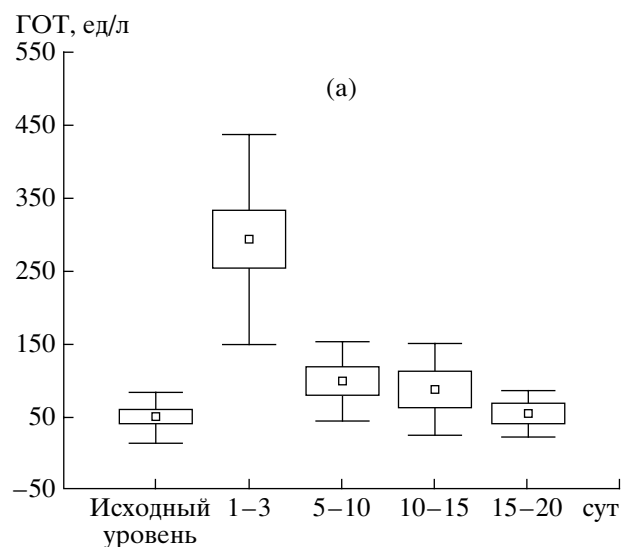


Рис. 5. Динамика уровня индикаторных ферментов у больных после обширной резекции печени.

Таблица 2. Изменения биохимических показателей крови до и после обширных резекций печени

Биохимический показатель	Нормальный показатель	Исходные данные	День после операции			
			1–3-й	5–10-й	10–15-й	15–21-й
Общий белок, г/л	68–81	76.3 ± 1.9	55.4 ± 2.6*	60.4 ± 3.02*	66.3 ± 4.4*	69.9 ± 4.7
Альбумин, г/л	39.0–49.0	41.2 ± 2.1	28.4 ± 1.9*	33.6 ± 4.8	34.6 ± 5.2	34.5 ± 6.2
Глобулин, г/л	23.0–35.0	35.4 ± 2.0	26.6 ± 1.2*	27.2 ± 1.7*	29.7 ± 1.1	34.9 ± 3.7
ГОТ, ед/л	0–38	50.1 ± 9.4	292.5 ± 39.3*	98.01 ± 19.1*	87.4 ± 25.5	54.2 ± 13.8
ГПТ, ед/л	8–45	56.2 ± 10.2	228.9 ± 46.4*	101.8 ± 27.2	94.6 ± 41.2	102.4 ± 47.8
Псевдохолинэстераза, ед/л	5.4–13.2	7.8 ± 1.6	4.9 ± 0.55*	6.23 ± 0.1	4.5 ± 2.01	4.2 ± 0

* Достоверные изменения ($p < 0.05$) по отношению к исходному уровню.

яснить защитной реакцией организма на обширную операционную травму.

Таким образом, изучение уровня нового витамин К-зависимого белка *протеина С* наряду с ранее известными биохимическими тестами, может быть эффективным для выявления изменений гемостазиологического статуса больного перед операцией по поводу очагового образования печени и послужит ориентиром при решении вопроса о функциональных резервах печени с целью отработки критериев операционного риска.

Список литературы

1. Баркаган З.С. Введение в клиническую гемостазиологию. М. 1998. С. 21–23
2. Баркаган З.С. Очерки антитромботической фармакопрофилактики и терапии. М., 2000.
3. Вишневский В.А. Совершенствование методов хирургического лечения очаговых поражений печени. Дис. ... д-ра. мед. наук. М. 1990.
4. Вишневский В.А., Титова М.И., Сивков В.В. и др. Нарушения системы гемостаза после резекций печени, их профилактики и коррекция. Клиническая медицина. 1996. № 8. С. 32–34.
5. Егорова В.В., Шимкевич Л.Л. Исследование содержания естественного антикоагулянта *протеина С* при заболеваниях печени. Клиническая медицина. 1988. № 5. С. 87–91.
6. Егорова В.В. Клиническое значение определения *протеина С*-зависимых нарушений гемостаза у хирургических больных. Дисс. ... канд. мед. наук. М. 1989.
7. Карелин А.А., Адамян А.А., Титова М.И., Егорова В.В. Клиническое значение определения *протеина С*-зависимых нарушений гемостаза у хирургических больных. Клиническая медицина. 1995. № 5. С. 57–59.
8. Карелин А.А., Вишневский В.А., Титова М.И., Егорова В.В. Биохимические маркеры опухолей печени. Российский гастроэнтерологический журнал. 1996. № 3. С. 65–71.
9. Магомедов Ш.М. Изменения некоторых показателей свертывающей, антисвертывающей и фибринолитической систем крови при механической желтухе и степень обратимости этих изменений после восстановления оттока желчи. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М. 1969.
10. Подколзин А.В. Клинико-функциональные изменения после резекций печени. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М. 1992.
11. Саидов С.С. Нарушения реакции системы гемостаза после резекций печени, их профилактики и коррекция. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М. 1994.
12. Титова М.И. Послеоперационные нарушения системы гемостаза, их диагностика и профилактика. Автореф. дис. ... д-ра. мед. наук. М. 1993.
13. Хазанов А.И. Прогностическое значение функциональных проб печени и систем тестов. Анналы хирургической гепатологии. 1997. Т. 2. С. 41–46.
14. Fujiyama S., Izuno K. et al. Clinical usefulness of des-j-carboxy protrombin assay in early diagnosis of hepatocellular carcinoma. Digestive Diseases and Sciences. 1991. № 36. P. 1787–1792.
15. Liebman N.A. Isolation and characterization of a heptomass-associated abnormal (des-J-cagboxy) protrombin. Cancer Res. 1989. V. 49. P. 6493–6497.
16. Mannucci P.M., Vigano S. Deficiencies of *protein C*, an inhibitor of blood coagulation. Lancet. 1982. V. 2. P. 463–467.
17. Marlari R.A., Kleiss A.J., Griffin J.H. Mechanism of action of human activated *protein C*, a thrombin-dependent anticoagulant enzyme. Blood. 1982. V. 59. № 5. P. 1067–1072.
18. Okuda H., Nakashimi T., Furukawa M., Obata H. Vitamin K-dependent proteins and hepatocellular carcinoma. J. Gastroenterol. Hepatol. 1991. № 6. P. 392–399.

19. Shimada M., Matsumata T., Kamakura T. et al. Changes in regulating blood coagulation in hepatic resection with special references to soluble thrombomodulin and protein C. J. of the American College of Surgeons. 1994. V. 178. P. 65–68.
20. Statistica for Windows. Copyright 1984–1994 by Stat Soft.
21. Stenflo J. A new vitamin K-dependent protein. G. Biol. Chem. 1976. V. 251. № 2. P. 355–363.
22. Tsuji K., Eguchi Y., Kodama M. Postoperative hypercoagulable state followed by hyperfibrinolysis related to wound healing after hepatic resection. J. of the American College of Surgeons. 1996. V. 183. P. 230–238.
23. Tsuzuki T., Toyama K., Nakayasu K. et al. Disseminated intravascular coagulation after hepatic resection. Surgery. 1990. V.107. № 2. P. 172–176.
24. Walker F.J. Protein C deficiency in liver disease. Ann. Clin. Lab. Sci. 1990. 20. P. 106–112.
25. Yoshikawa Y., Sakata J., Todo G. et al. The asquired vitamin K-dependent gamma carboxylation deficiency in hepatocellular carcinoma involves not only protrombin but also protein C. Hepatology. 1989. V. 8. P. 524–531.