

ГЕМОСТАЗ

ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ТЕРМИНЫ, СОКРАЩЕНИЯ И АББРЕВИАТУРЫ

a – активный. Добавляется к римско-цифровому названию фактора свертывания (например, Ха, VIIa, Va) при его активации,
серпин – *serpine*, *serine proteinase inhibitor*, ингибитор сериновых протеаз,
ВМК – высокомолекулярный кининоген,
APC – *activated protein C*, активный протеин C,
t-PA – *tissue plasminogen activator*, тканевой активатор плазминогена,
u-PA – *urokinase plasminogen activator*, урокиназный активатор плазминогена,
PAI-1 – *plasminogen activator inhibitor-1*, ингибитор тканевого активатора плазминогена,
PAF – *platelet-activating factor*, фактор активации тромбоцитов,
PAR – *protease activated receptor*, рецепторы, активируемые протеазой, рецепторы тромбина,
GP – *glycoprotein*, гликопротеиновый рецептор тромбоцитов,
EPSCR – *endothelial cell protein C receptor*, рецептор к протеину C на эндотелиальных клетках,
TAFI – *thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor*, тромбин-активируемый ингибитор фибринолиза,
TF – *tissue factor*, тканевой фактор,
TFPI – *tissue factor pathway inhibitor*, ингибитор пути тканевого фактора.

Гемостаз – это совокупность морфофункциональных механизмов, которая обеспечивает:

- быструю остановку кровотечения и предотвращение кровопотери при повреждении кровеносных сосудов (свертывающая система),
- поддержание жидкого состояния крови внутри сосудов (противосвертывающая система).

Обеспечение остановки кровотечения и нормализации кровоснабжения тканей реализуется в три этапа:

1. **Сосудисто-тромбоцитарный** (первичный) гемостаз – образование тромбоцитарной пробки (белого тромба).
2. **Коагуляционный** (вторичный) гемостаз – формирование фибринового сгустка.
3. **Фибринолиз** – удаление тромба, растворение фибрина и восстановление кровотока.

Как для коагуляции, так и для поддержания жидкого состояния крови требуются многочисленные вещества. Синтез этих веществ осуществляется в тромбоцитах, эндотелиоцитах, фибробластах, моноцитах. Многие белки гемостаза синтезируются в печени.

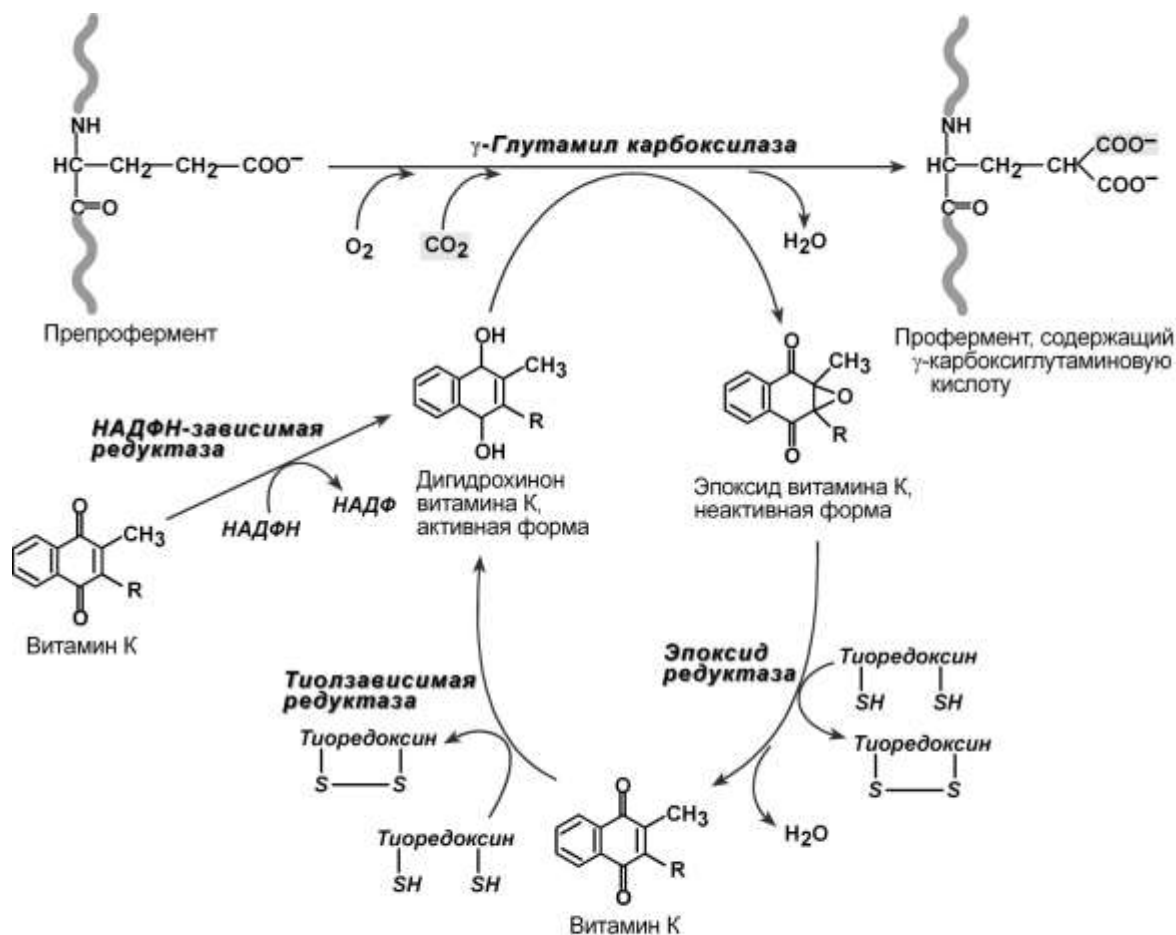
Роль печени в гемостазе

В печени происходит синтез участников гемостаза – факторов свертывания крови I, II, V, VII, VIII, IX, X, XI, XII, антикоагуляционных протеинов C и S, антитромбина III, плазминогена, прекалликреина, высокомолекулярного кининогена. Многие из этих соединений синтезируются также в клетках, непосредственно участвующих в гемостазе – тромбоцитах, эндотелии, лейкоцитах.

Общей характерной особенностью факторов II, VII, IX, X, протеинов C и S является наличие в их составе **γ-карбоксиглутаминовой кислоты**. Эта аминокислота образуется при посттрансляционной модификации указанных белков ферментом γ-глутамилкарбоксилазой,

коферментом которой является витамин К. γ -Карбоксиглутамат позволяет витамин-К-зависимым белкам при участии ионов Ca^{2+} связываться с кислыми фосфолипидами на поверхности активированных клеток.

Поступивший в печень витамин К (нафтохинон) восстанавливается НАДФН-зависимой витамин К **редуктазой** с образованием дигидрохинона витамина К. Затем, в ходе ферментативной реакции, дигидрохинон окисляется и образуется неактивный 2,3-эпоксид витамина К. Регенерация эпоксида в дигидрохинон осуществляется **редуктазами**, коферментом которых является белок **тиоредоксин**.



Участие витамина К в реакции γ -карбоксилирования предшественников факторов гемостаза

1. СОСУДИСТО-ТРОМБОЦИТАРНЫЙ ГЕМОСТАЗ

Основными компонентами сосудисто-тромбоцитарного гемостаза являются:

1. Стенка кровеносных сосудов – эндотелий и субэндотелий, базальная мембрана.
2. Клетки крови – тромбоциты.

1.1. СОСУДИСТАЯ СТЕНКА

Сосудистая стенка состоит из трех слоев: **интима** (эндотелий, субэндотелий и базальная мембрана), **медия** (гладкомышечные клетки), **адвентиция** (соединительная ткань).

Функциями сосудистой стенки являются:

1. Механическое ограничение потока крови.
2. Регуляция кровотока – сужение и расширение сосудов.
3. Участие в гемостазе:

- секреция в кровь факторов свертывания, антикоагуляции и фибринолиза,
- экспозиция на мембране эндотелия рецепторов для факторов гемостаза,
- связывание тромбоцитов с коллагеном базальной мембраны.

Роль эндотелия

Эндотелий представляет собой монослой клеток, непрерывно выделяющих на свою поверхность разнообразные биологически активные молекулы, обеспечивающие гемостаз. Среди этих молекул имеются как антикоагулянты, так и прокоагулянты.

Для понимания роли эндотелия в гемостазе необходимо принять два его состояния – **поврежденное** (активное) и **неповрежденное** (спокойное). В неповрежденном (спокойном) состоянии эндотелий интактен, т.е. он не смачивается, его ламинарная сторона заряжена отрицательно, что отталкивает тромбоциты, он активно образует антикоагулянтные вещества.

Соединения, секретируемые спокойным эндотелием

На мембране неактивного эндотелиоцита присутствуют **рецепторы** для тромбина (**тромбомодулин**) и протеина С (**ЕРСR**), участвующие в антикоагулянтной активности интактного эндотелия.

В клетках неповрежденного эндотелия синтезируется большое количество разнообразных соединений, препятствующих свертыванию крови. Наиболее заметными среди них являются:

1. **АДФаза**, гидролизующая выделяемый тромбоцитами АДФ (стимулятор их агрегации).
2. Мощный антикоагулянт **гепарансульфат**, составляет до 80% протеогликанов гликокаликса,
3. **Вазодилатирующие факторы**:
 - фактор релаксации эндотелия (**оксид азота**, NO) – вазодилататор,
 - **простаглицлины** (PGI) – эйкозаноиды, снижают агрегацию тромбоцитов и расширяют мелкие сосуды,
4. **Тканевой активатор плазминогена** (t-PA, *tissue plasminogen activator*) – активирует фермент плазмин, разрушающий фибрин в сформированном тромбе.
5. **Ингибитор пути тканевого фактора** (TFPI, *tissue factor pathway inhibitor*) – блокирует запуск системы свертывания тем, что он ингибирует комплекс тканевого фактора (ф. VПa-TF) , как следствие, активацию фактора X.

Соединения, секретируемые активированным эндотелием

Эндотелий может активироваться механическим повреждением, цитокинами, гипоксией, иммунными комплексами, инфекционными агентами, гистамином. На стимулированных эндотелиоцитах снижается количество тромбомодулина, они начинают секретировать молекулы с **прокоагулянтной** активностью:

1. **Тканевой фактор** (TF, *tissue factor*, **тканевой тромбопластин**, фактор III) – связан в мембране с кислыми фосфолипидами (фосфатидилсерин и фосфатидилэтаноламин), функционирует как рецептор и кофактор **фактора VII**.
2. **Ингибитор активатора плазминогена** (PAI-1, *plasminogen activator inhibitor-1*) – блокирует реакции фибринолиза тем, что инактивирует действие активатора плазминогена t-PA.
3. **Фактор Виллебранда** – очень крупный (ММ до 20 млн Да) мультимерный гликопротеин, выполняющий функции
 - прикрепления тромбоцита к субэндотелиальному коллагену в поврежденной стенке сосуда (**адгезия**) через тромбоцитарный рецептор **GPІb**,
 - связывания и защиты фактора VIII в кровотоке от активированного протеина С,
 - доставка фактора VIII в зону повреждения (т.к. сам фактор Виллебранда здесь задерживается).
4. **Эндотелины** – связываясь с рецепторами на гладкомышечных клетках, стимулируют сужение сосудов.

5. **Фактор активации тромбоцитов** (PAF, *platelet-activating factor*) – вызывает агрегацию тромбоцитов.

Роль субэндотелия

Большая часть компонентов субэндотелия синтезируется и секретируется эндотелиальными клетками.

Клетки, находящиеся под эндотелием (**макрофаги, фибробласты**), имеют на поверхности тканевой фактор (**тканевой тромбопластин**). При связывании тканевого фактора с фактором VIIa при наличии ионов Ca^{2+} формируется комплекс, активирующий фактор X. Эта реакция является пусковой для процесса свертывания крови.

Базальная мембрана

Базальная мембрана содержит

1. **Коллагены** – главные фибриллярные белки внеклеточного матрикса. Коллаген связывается

- с GP1a-рецепторами тромбоцитов, благодаря чему происходит адгезия тромбоцитов на поврежденной поверхности,
- с GP1b-рецепторами тромбоцитов через фактор Виллебранда.

2. Структурные и адгезивные белки:

- **фибронектин** – гликопротеин, состоящий из двух практически идентичных полипептидных цепей. Принадлежит к семейству адгезивных белков, наличие связывающих доменов позволяет белку функционировать как молекулярный клей, соединяющий разные молекулы (например, рецепторы тромбоцита и коллаген).
- **витронектин** – полифункциональный гликопротеин, выполняет функции адгезии, как и фибронектин. Также активирует белок PAI-1, который при отсутствии витронектина не в состоянии выполнять свою функцию (подавление фибринолиза).

1.2. ТРОМБОЦИТЫ

Тромбоциты – это клетки, ответственные за формирование первичной тромбоцитарной пробки в зоне повреждения за счет адгезии и последующей агрегации. Свои задачи тромбоциты выполняют благодаря разнообразным **секретируемым молекулам** и при участии **рецепторов** к стимуляторам и ингибиторам коагуляции.

Роль гранул

Тромбоциты имеют различные **гранулы**, которые выделяют свое содержимое в систему канальцев открытого типа, т.е. связанных с внеклеточным пространством.

1. **α-Гранулы** (alfa-гранулы), содержат до 30 различных белков, наиболее заметными среди которых являются:

- **β-тромбоглобулин** – ингибитор синтеза простациклина в эндотелиоцитах, выделяется до секреции других белков. Является маркером активированных тромбоцитов.
- **тромбоцитарные факторы** коагуляции, например, такие как фибриноген, фибринстабилизирующий фактор,
- **ингибитор активатора плазминогена** (PAI-1, *plasminogen activator inhibitor-1*) – подавляет реакции фибринолиза,
- **фактор активации тромбоцитов** (PAF, *platelet-activating factor*),
- **фактор Виллебранда** – обеспечивает адгезию тромбоцитов,
- **фибронектин** – адгезивный белок, способен контактировать с коллагеном и тромбоцитами, образуя "мостики" между ними,
- **витронектин** – адгезивный белок, взаимодействует с эндотелиоцитами и тромбоцитами,
- **тромбоспондин** – белок, опосредующий адгезию тромбоцитов к субэндотелию,
- **тромбоцитарный фактор роста** (PDGF, *platelet-derived growth factor*) – стимулятор роста эндотелиоцитов, фибробластов, гладких миоцитов.

2. δ -Гранулы (delta-гранулы, **плотные тельца**) включают активаторы сосудистой реакции и агрегации тромбоцитов:
 - АДФ и АТФ,
 - **вазоактивные амины** – серотонин, дофамин, гистамин,
 - ионы Ca^{2+} .
3. γ -Гранулы (gamma-гранулы) – это лизосомы, содержащие глюкозидазы, пероксидазу, эстеразы, кислую фосфатазу и др.
4. λ -Гранулы (lambda-гранулы) – содержат белки, необходимые впоследствии для резорбции сгустка при восстановлении целостности сосудистой стенки.

Роль рецепторов

Для связывания регулирующих лигандов на мембране тромбоцитов находятся **рецепторы** для:

- **тромбина** – рецепторы PAR1 (*protease activation receptor*), тромбин является наиболее мощным из известных активаторов тромбоцитов,
- фактора Виллебранда – рецепторы GPIb,
- **фибриногена** – рецепторы GPIIb/IIIa,
- неактивных и активных форм **факторов свертывания** XI, X, IX, VIII, V,
- тромбоксана,
- **коллагена** – рецепторы GPIa/IIa,
- АДФ – рецепторы P2Y₂ и P2Y₁₂,
- серотонина, гистамина.

У некоторых указанных рецепторов нет узкой специфичности, и они способны связывать разные лиганды. К примеру, рецептор GPIb – одновременно рецептор и для фактора Виллебранда и для тромбина. В активных тромбоцитах на мембране находится рецептор GPIIb/IIIa, преимущественно взаимодействующий с фибриногеном, но он может присоединять и фактор Виллебранда.

Также в тромбоцитах имеется сократительный белок **тромбостенин** (ретрактозим), белок подобный актомиозину, примыкает к внутренней стороне мембраны и связан с внутриклеточным доменом рецептора GPIIb/IIIa.

1.3. СОБЫТИЯ СОСУДИСТО-ТРОМБОЦИТАРНОГО ГЕМОСТАЗА

В кровотоке постоянно содержится от 20 до 40% активированных "дежурных" тромбоцитов, готовых при появлении молекул адгезии моментально начать процесс свертывания крови. В процессе тромбоцитарно-сосудистого взаимодействия различают стадии адгезии, активации и агрегации.

Адгезия

При повреждении стенки сосуда из эндотелия высвобождаются белки адгезии, в первую очередь **фактор Виллебранда**, обнажается коллаген и создается чужеродная "тромбогенная" контактная поверхность. Она адгезирует тромбоциты и запускает процесс свертывания. Процесс адгезии заключается в прикреплении тромбоцитов, оказавшихся в зоне повреждения, к субэндотелиальным структурам.

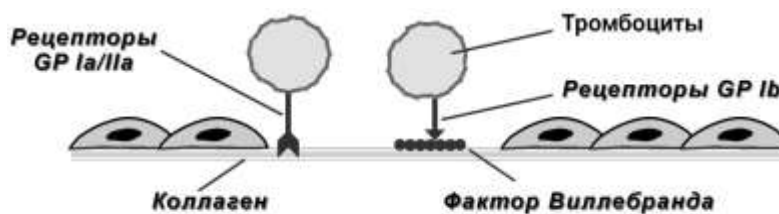


Схема адгезии тромбоцитов на базальной мембране

При этом происходит **прямой контакт** тромбоцитов и коллагена базальной мембраны через тромбоцитарные рецепторы GPIa/IIa. Одновременно, выделенный из поврежденных эндотелиоцитов **ф.Виллебранда** связывается одной своей частью с тромбоцитарным рецептором GPIb, а другой – с коллагеном субэндотелия.

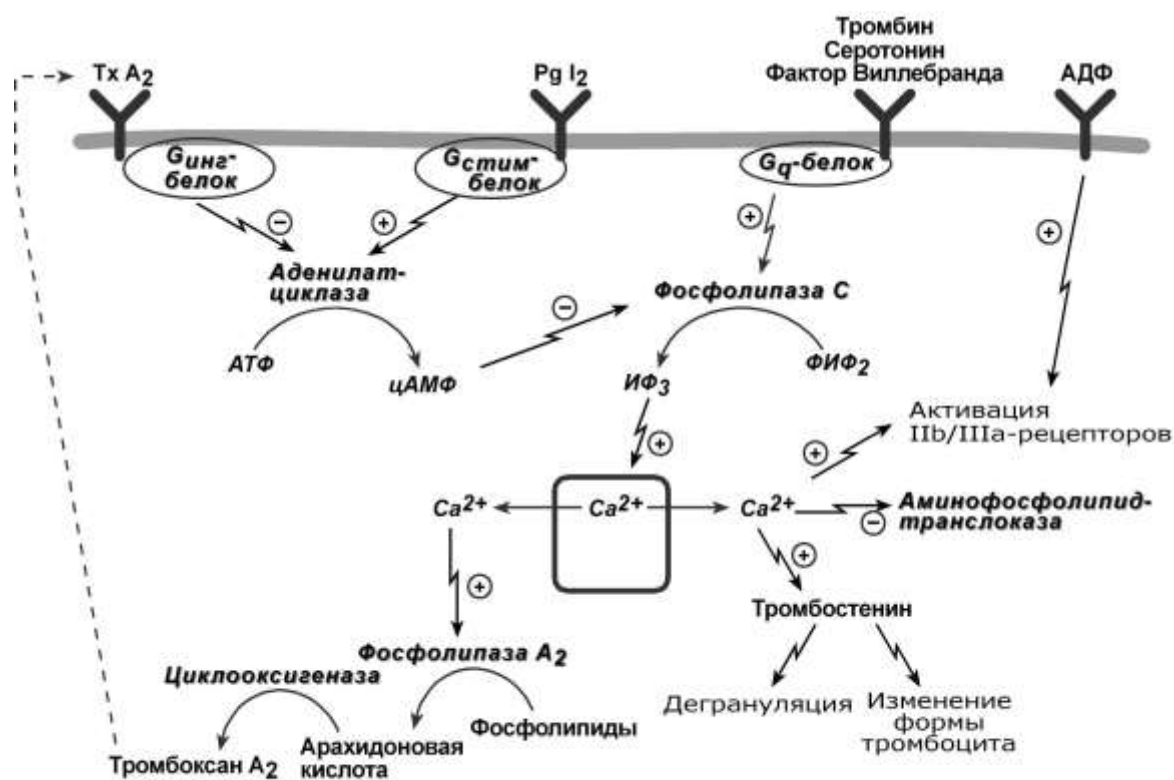
После прикрепления к поврежденной поверхности тромбоциты активируются.

Активация

Адгезия тромбоцитов к коллагену (рецепторы GPIa/IIa и другие) и взаимодействие с фактором Виллебранда (рецептор GPIb) приводит к их активации.

Связывание фактора Виллебранда с рецептором GPIb запускает **фосфолипид-кальциевый механизм** передачи сигнала, что, в конце концов, приводит к повышению внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+} и активации протеинкиназы C. В результате:

- ингибируется АТФ-зависимая **аминофосфолипид-транслоказа**, поддерживающая мембранную асимметрию фосфолипидов. На наружной поверхности мембраны появляется отрицательно заряженный **фосфатидилсерин**. Вместе с ним на поверхность выходит гликопротеин (**тканевой фактор**) и мембрана становится поверхностью для взаимодействия плазменных факторов свертывания. Эта поверхность называется **тромбоцитарный тромбопластин**.
- происходит сокращение белка тромбостенина, в результате происходит **дегрануляция** и наружу высвобождаются факторы, **усиливающие** адгезию и агрегацию,
- изменяется форма тромбоцита, появляются псевдоподии, и он расплывается на контактной поверхности,



Внутриклеточные реакции при активации тромбоцита

- происходит активация **фосфолипазы A2**, которая от фосфатидилхолина мембраны отщепляет арахидоновую кислоту и из нее синтезируется **тромбоксан A2** – сильный индуктор агрегации тромбоцитов и вазоконстриктор. Под его действием из активированного тромбоцита ускоряется **высвобождение** активных веществ (протромбина,

РАФ, АДФ, ионов Ca^{2+} , серотонина, тромбоксана А2 и др.), что поддерживает и усиливает активацию **этого и следующих** тромбоцитов.

Активированные тромбоциты имеют на своей поверхности рецепторы для активных и неактивных факторов V, VIII, IX, X, XI, протромбина и тромбина.

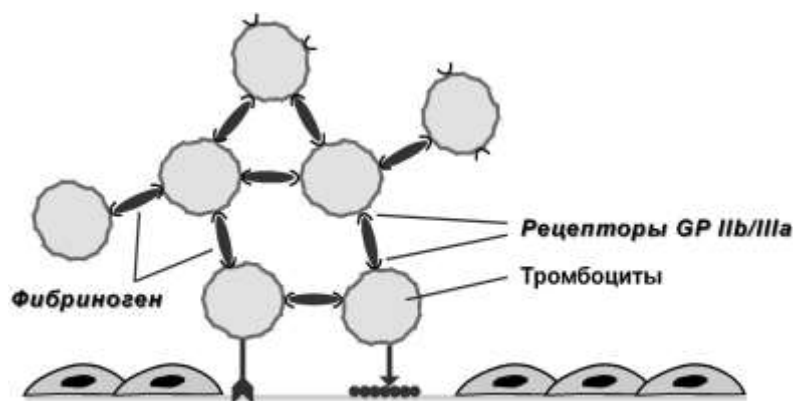
Активация усиливается также под действием АДФ, выделяющейся из поврежденных эритроцитов и сосудистой стенки.

Агрегация

Процесс агрегации заключается стабилизации тромба фибрином и в слипании активированных тромбоцитов друг с другом.

Любой пусковой сигнал приводит в активированном тромбоците к конформационным изменениям **рецептора GPIIb/IIIa**, который перемещается на мембрану. После связывания с этим рецептором фибриноген действует как мостик между прилегающими тромбоцитами. В зоне повреждения образуется **тромбоцитарный тромб**, армированный фибриногеном. Пока связь между тромбоцитами еще не прочна и такую агрегацию называют **обратимой**. Активация и агрегация поддерживается непрерывной секрецией из связывающихся тромбоцитов содержимого их гранул.

Продолжающаяся дегрануляция тромбоцитов, секреция ими PgG_2 , PgH_2 , тромбоксана А2 и АДФ, катализируемое тромбином превращение фибриногена в фибрин делают агрегацию **необратимой**. Такой тромбоцит прочно связан с другими клетками, он потерял содержимое гранул и не может вернуться в исходное состояние.



Схематичное изображение агрегации тромбоцитов

Ретракция

Ретракция – это уплотнение сгустка крови с выделением из него избытка сыворотки. Стимулом для ретракции являются различные вещества, выделяемые тромбоцитом на этапах активации и агрегации. Ретракция осуществляется благодаря тому, что к внутриклеточной части рецепторов GPIIb/IIIa присоединен сократительный белок **тромбостенин** (подобен актомиозину мышечных волокон), который при накоплении в цитозоле ионов Ca^{2+} сокращается и сжимает сгусток.

Сжатие сгустка обуславливает повышение давления внутри тромбоцита и вызывает дополнительный выброс веществ из его гранул, что еще более усиливает ретракцию и окончательно уплотняет тромб.

В норме кровотечение из мелких сосудов продолжается не более 5 минут.

2. КОАГУЛЯЦИОННЫЙ ГЕМОСТАЗ

2.1. ПЛАЗМЕННЫЕ ФАКТОРЫ ГЕМОСТАЗА

Плазменные факторы (многочисленные протеазы и их белковые коферменты) можно подразделить на три основные группы:

- белки системы **свертывания**,
- белки системы **фибринолиза**,
- белки калликреин-кининовой системы и системы комплемента.

Активация каждой из этих систем является многоэтапным каскадным ферментативным процессом.

Существуют **общие особенности** плазменных факторов гемостаза. А именно:

1. Практически все они находятся в крови в неактивной форме и только небольшое количество (около 1-2%) фактора VII циркулирует в активном виде. Активация белков гемостаза происходит механизмом **ограниченного протеолиза**, его способны осуществлять ферментативные факторы II, VII, IX, X, XI, XII, плазмин.

2. Реакции свертывания не могут происходить непосредственно в кровотоке, им требуется отрицательно заряженная твердая поверхность – мембраны активированных тромбоцитов, фибробластов, макрофагов, бактерий и др. Такая поверхность носит название **тромбопластин**. Тромбопластин представляет собой комплекс двух мембранных молекул – белка гликопротеина и аминофосфолипидов (фосфатидилсерина или фосфатидилэтаноламина), по происхождению выделяют **тромбоцитарный** и/или **тканевой** тромбопластин.

3. Многие реакции также нуждаются в наличии **ионов кальция**, который обеспечивает связывание факторов свертывания с поверхностью мембран.

2.2. БЕЛКИ СИСТЕМЫ СВЕРТЫВАНИЯ ПЛАЗМЫ

Система свертывания состоит из ферментов свертывания, неферментативных белковых кофакторов и ингибиторов свертывания. Целью работы этой системы является образование фермента **тромбина**, ответственного за превращение фибриногена в фибрин.

Среди факторов свертывания крови выделяют три группы:

1. Ферментативные белки, являются **сериновыми протеазами** (кроме фактора XIII):
 - фактор II – протромбин,
 - фактор VII – проконвертин,
 - фактор IX – антигемофильный глобулин В или фактор Кристмаса,
 - фактор X – фактор Стюарта-Прауэра,
 - фактор XI – антигемофильный глобулин С или фактор Розенталя,
 - фактор XIII – фибринстабилизирующий фактор или фактор Лаки-Лоранда.
2. Белки-**кофакторы**, не обладающие протеолитической активностью. Роль этих белков заключается в связывании и закреплении ферментативных факторов на мембране тромбоцитов:
 - фактор V – проакцелерин, является кофактором фактора Xa,
 - фактор VIII – антигемофильный глобулин А, является кофактором фактора IXa,
 - фактор Виллебранда.
 - высокомолекулярный кининоген (ВМК, фактор Фитцджеральда-Флюже) – кофактор ф. XII и рецептор прекалликреина. Необходимо иметь в виду, что по новой "клеточной теории" эти белки относятся к системе фибринолиза.
3. Структурный белок тромбообразования – фактор I (**фибриноген**).

Тромбин (фактор II)

Тромбин, ключевой фермент гемостаза, является сериновой протеазой. В **печени** при участии витамина К происходит синтез его неактивного предшественника – **протромбина**,

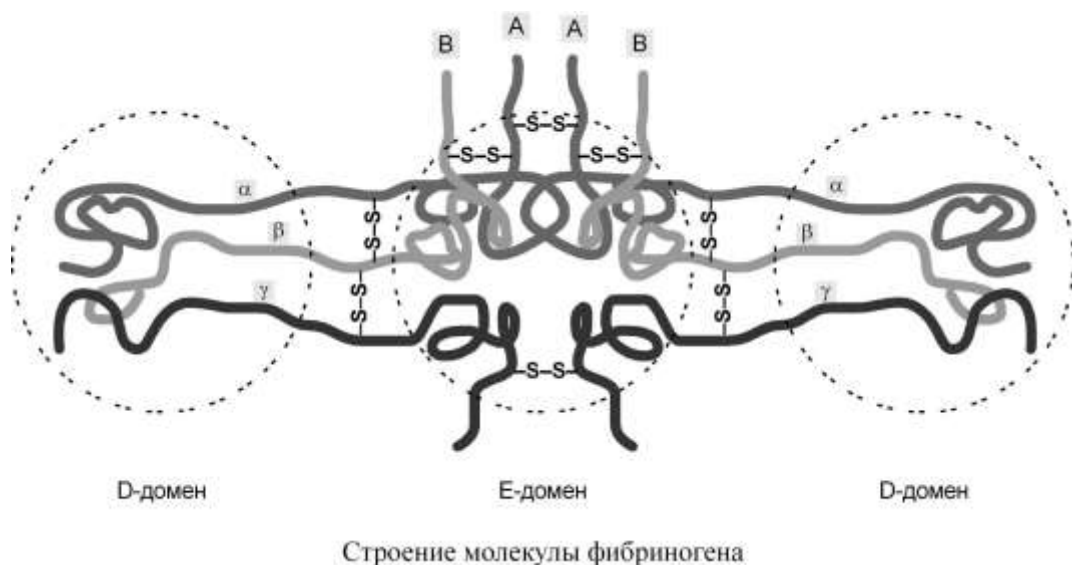
который в дальнейшем циркулирует в плазме. В **плазме** крови превращение протромбина в тромбин происходит непосредственно под действием фактора Ха (совместно с Va).

Функции тромбина в гемостазе:

- превращение фибриногена в **фибрин-мономеры**,
- активация фибрин-стабилизирующего фактора,
- ускорение свертывания через активацию факторов **V, VIII, IX, XI** (положительная обратная связь),
- в комплексе с тромбомодулином интактных эндотелиоцитов активирует **протеин С**,
- в комплексе с тромбомодулином (в высоких концентрациях) активирует **TAFI** (*thrombin activatable fibrinolysis inhibitor*),
- активация тромбоцитов (секреция гранул),
- активация гладкомышечных клеток,
- стимулирование хемотаксиса лейкоцитов.
- стимулирование секреции из эндотелиальных клеток **простаглицлина** и **t-PA**,

Фибриноген (фактор I)

Фибриноген (фактор I) – большой многокомпонентный белок, который состоит из трех пар полипептидных цепей – A α , B β , $\gamma\gamma$, связанных между собой дисульфидными мостиками. Пространственная структура молекулы фибриногена представляет собой центральный E-домен и 2 периферических D-домена, α - и β -цепи на N-конце имеют глобулярные структуры – фибринопептиды A и B (ФП-A и ФП-B), которые закрывают комплементарные участки в фибриногене и не позволяют этой молекуле полимеризоваться.



Синтез фибриногена не зависит от витамина К, происходит в **печени** и в клетках **РЭС**. Некоторое количество фибриногена синтезируется в **мегакариоцитах** и содержится в тромбоцитах. Превращение фибриногена в фибрин происходит под влиянием **тромбина**.

Фибринстабилизирующий фактор

Фибринстабилизирующий фактор (фактор XIII) синтезируется в печени, относится к большому семейству ферментов **трансглутаминаз**, в плазме крови большая часть неактивного фактора XIII связана с фибриногеном.

Активация фактора XIII происходит при помощи **тромбина** способом ограниченного протеолиза из неактивного предшественника.

Как и большинство других ферментов, фактор XIII выполняет в гемостазе несколько функций:

- **стабилизирует** фибриновый сгусток путем образования ковалентных связей между γ -цепями мономеров фибрина,

- прикрепляет фибриновый сгусток к фибронектину внеклеточного матрикса,
- участвует в связывании **$\alpha 2$ -антиплазмина** с фибрином, что способствует предотвращению преждевременного лизиса фибринового сгустка,
- необходим тромбоцитам для полимеризации актина, миозина и других белков цитоскелета, используемых при **ретракции** фибринового сгустка.

2.3. СОБЫТИЯ КОАГУЛЯЦИОННОГО ГЕМОСТАЗА

При повреждении **крупных** кровеносных сосудов тромбоцитарная пробка не способна остановить кровотечение, она относительно рыхлая и непрочная. Только коагуляционный гемостаз способен остановить кровотечение из такого сосуда.

2.3.1. Классическая теория коагуляции

В классической схеме свертывания крови выделяют 2 пути активации факторов свертывания:

1. **Активация тканевым фактором.** Так как тканевой фактор не относится к плазменным факторам и контактирует с кровью только при повреждении сосуда, то активация с его участием обозначается как **внешний путь** свертывания.
2. **Контактная активация** – активация фактора XII при взаимодействии с отрицательно заряженной поверхностью (*in vitro*) или при воспалении (*in vivo*). Поскольку фактор XII в норме присутствует в плазме, активация с его участием обозначается как **внутренний путь** свертывания.

Внешний и внутренний пути сходятся на X факторе, активная форма которого Xa , вместе с фактором Va и Ca^{2+} формирует ферментативный комплекс $Xa-Va-Ca^{2+}$, иначе называемый **протромбиназа**, которая превращает протромбин в тромбин. Образовавшийся тромбин превращает фибриноген в фибрин-мономеры. Последние соединяются, образуя полимеры фибрина.

Реакции с участием VII, IX, X, XI, XII факторов происходят **на фосфолипидной поверхности** (тромбопластине).

Внешний путь свертывания

После повреждения сосуда тканевой фактор (TF), находящийся на клетках, связывает и активирует фактор VII. Образованный комплекс напрямую активирует фактор X до Xa , и далее $f.Xa$ при участии кофактора Va в присутствии ионов Ca^{2+} формирует комплекс $Xa-Va-Ca^{2+}$ – **протромбиназу**, превращающую протромбин в тромбин.

Активность внешнего пути поддерживается за счет механизма **положительной обратной связи**:

- образующийся тромбин активирует V и VIII фактор.
- фактор Xa в присутствии ионов Ca^{2+} активирует фактор VII.

Внутренний путь свертывания

Внутренний путь свертывания разворачивается **на фосфолипидной поверхности** тромбоцитов или иных клеток, где в первую очередь происходит сборка комплекса, состоящего из факторов XII, XI, прекалликреина и высокомолекулярного кининогена (ВМК).

1. Связывание фактора XII с тромбопластином (тканевым фактором) изменяет его **конформацию** и он приобретает небольшую активность. Это позволяет фактору XIIa начать превращение прекалликреина в калликреин. Затем, в результате действия калликреина накапливается фактор XIIa, и активация калликреина усиливается. Т.о. фактор XIIa и калликреин взаимно активируют друг друга. Также фактор XII может активироваться фактором VIIa.
2. Фактор XIIa активирует фактор XI, который также может активироваться тромбином.
3. Фактор XIa в присутствии ионов Ca^{2+} локализуется на мембране и активирует фактор IX.

4. Фактор IXa связывается со своим кофактором VIIIa (активируемый тромбином) и образует комплекс IXa-VIIIa-Ca²⁺ (**теназный комплекс**). Фактор IX может также активироваться фактором VIIIa. Далее теназа активирует фактор X.
5. Активированный теназой фактор Xa при помощи своего кофактора Va (активируемого тромбином) в присутствии ионов Ca²⁺ на фосфолипидной мембране формирует комплекс Xa-Va-Ca²⁺ – **протромбиназу**.
6. Протромбиназа присоединяет протромбин и последовательно расщепляет две связи в его молекуле, отделяя N-концевой фрагмент от молекулы активного **тромбина**.

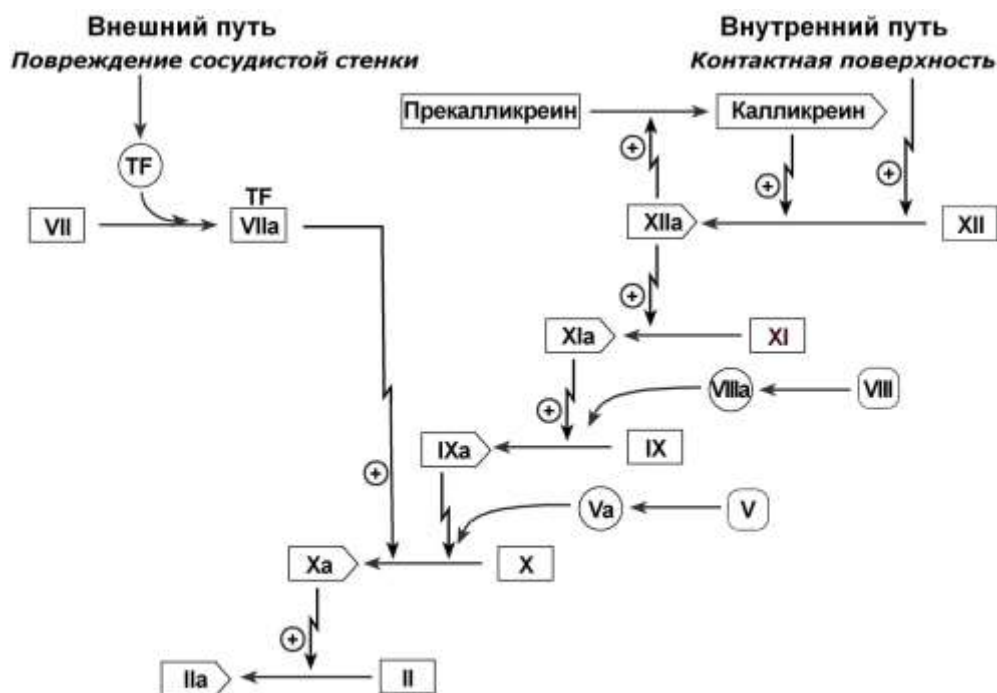


Схема событий классической теории коагуляции

7. Тромбин превращает фибриноген в фибрин и через обратные положительные связи поддерживает активность ферментативного каскада.

2.3.2. Каскадно-матричная теория коагуляции

Необходимость создания новой теории свертывания крови назрела в результате нестыковок классической теории с данными клинических наблюдений.

Современная **каскадно-матричная (клеточная) теория** подразумевает, что в организме "внешний" и "внутренний" пути не изолированы друг от друга, а представляют собой единую систему, имеющую множество прямых и обратных положительных связей и перекрестных влияний отдельных факторов друг на друга. Взаимодействие факторов свертывания плазмы и образование **протромбиназы** укладывается в 3 стадии:

1. Инициация.
2. Амплификация.
3. Пропагация.

В результате выполнения трех стадий образуется тромбин, далее превращающий фибриноген в фибрин-мономеры.

По клеточной теории "контактные" факторы (Хагемана (XIIa), калликреин, высокомолекулярный кининоген) имеют весьма ограниченное значение при коагуляции с целью остановки кровотечения, но необходимы для формирования фибрина в ходе **воспалительной** реакции.

1 стадия – инициация

Около 1-2% фактора VII находится в крови в активном состоянии (VIIa), но со слабой ферментативной активностью, и он не реагирует с другими факторами системы свертывания крови. Однако, как только травмируется сосуд, кровь контактирует с клетками субэндотелия (фибробластами, гладкими миоцитами, макрофагами) и тканевой фактор, находящийся на их мембране, связывает факторы VII и VIIa. В результате формируются **комплексы TF-VII и TF-VIIa**.

В каскаде коагуляции комплекс VIIa-TF-Ca²⁺ играет главную, пусковую роль, активируя на поверхности субэндотелия **фактор X**. Фактор Xa действует по двум направлениям:

- по положительной обратной связи стимулирует образование новых порций фактора VIIa,
- под влиянием фактора Xa начинает образовываться **тромбин**, пока еще в небольшом количестве.

Одновременно комплекс VIIa-TF-Ca²⁺ активирует **фактор IX**.

Таким образом, первая стадия связана с образованием комплекса TF-VIIa-Ca²⁺ на поверхности субэндотелия и активацией здесь фактора X, что приводит к образованию первых порций тромбина, необходимого для активации других компонентов системы гемостаза. Для превращения фибриногена в фибрин тромбина пока еще недостаточно.

2 стадия – амплификация

Как только обнажается субэндотелий, возникают условия для развития событий сосудисто-тромбоцитарного гемостаза – адгезии и активации тромбоцитов, которые предоставляют **фосфолипиды** (тромбоцитарный тромбопластин) для присоединения факторов свертывания. Сильным стимулятором активации тромбоцитов является образуемый на 1 стадии тромбин.

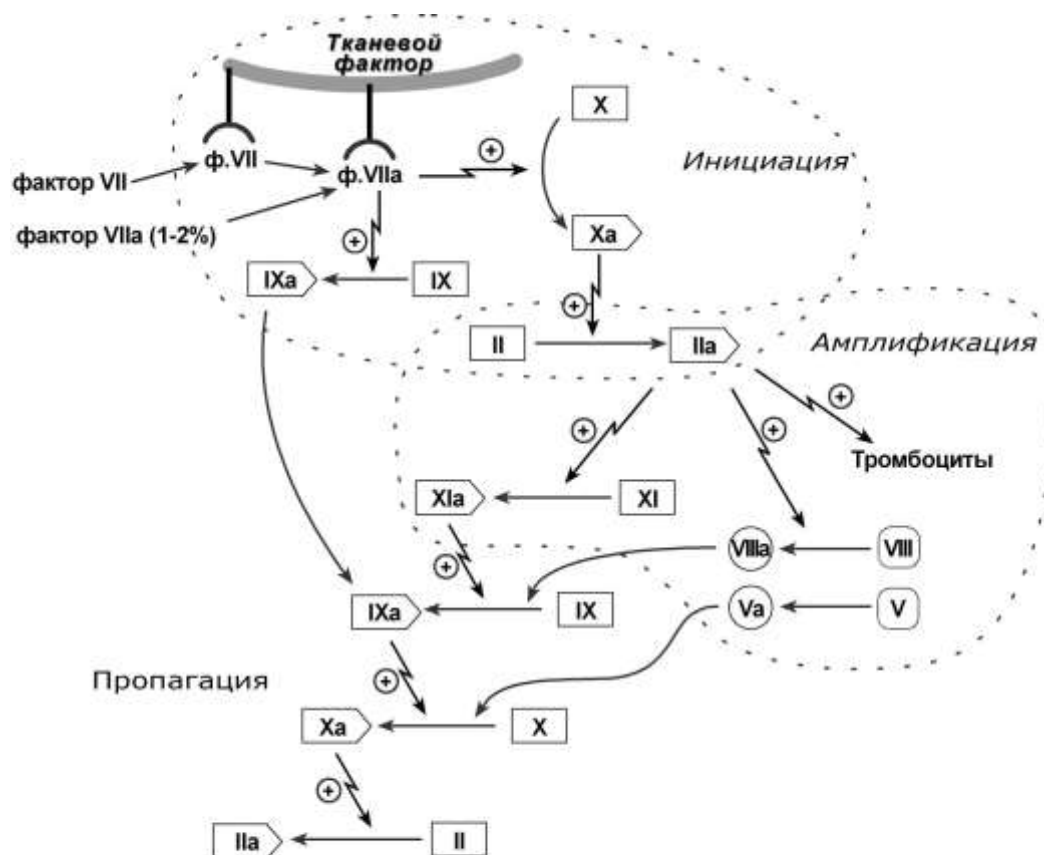


Схема событий каскадно-матричной теории коагуляции

Тромбин превращает **факторы V, VIII, XI** в их активные формы. Эти активированные факторы и мигрирующий от субэндотелия **фактор IXa** связываются с поверхностью адгезированных тромбоцитов.

Таким образом, события второй стадии обеспечивают образование **активных кофакторов** и переход процесса активации свертывания крови от субэндотелия на активированные **тромбоциты**.

3 стадия – пропация

На стадии пропации происходит каскадная активация факторов свертывания на поверхности тромбоцитов, имеющих рецепторы для активных и неактивных V, VIII, IX, X, XI факторов, для протромбина и тромбина.

Активация на предыдущей стадии фактора VIII позволяет сейчас сформироваться на поверхности тромбоцитов комплексу IXa+VIIIa+Ca²⁺ (**теназный комплекс**), который активирует **фактор X**. Под влиянием теназы скорость накопления фактора Xa увеличивается в 50-100 раз.

Образующийся фактор Xa с фактором Va образуют **протромбиназный комплекс**, который наращивает темпы синтеза тромбина в зоне повреждения.

Одновременно, под влиянием активированного тромбином фактора XIa (на второй стадии) появляются новые порции фактора IXa и **количество** теназы на поверхности тромбоцитов быстро нарастает. Эта положительная обратная связь усиливает свертывание еще в 5-10 тысяч раз.

В результате третьей стадии образуется **значительное** количество тромбина, которого уже достаточно для образования фибрина и формирования гемостатического тромба. Полученный **тромбин** образует **фибрин-мономер** из фибриногена и активирует **фактор XIII**. Также он активирует ингибитор фибринолиза **ТАFI**, что дает время сформироваться плотному гемостатическому тромбу.

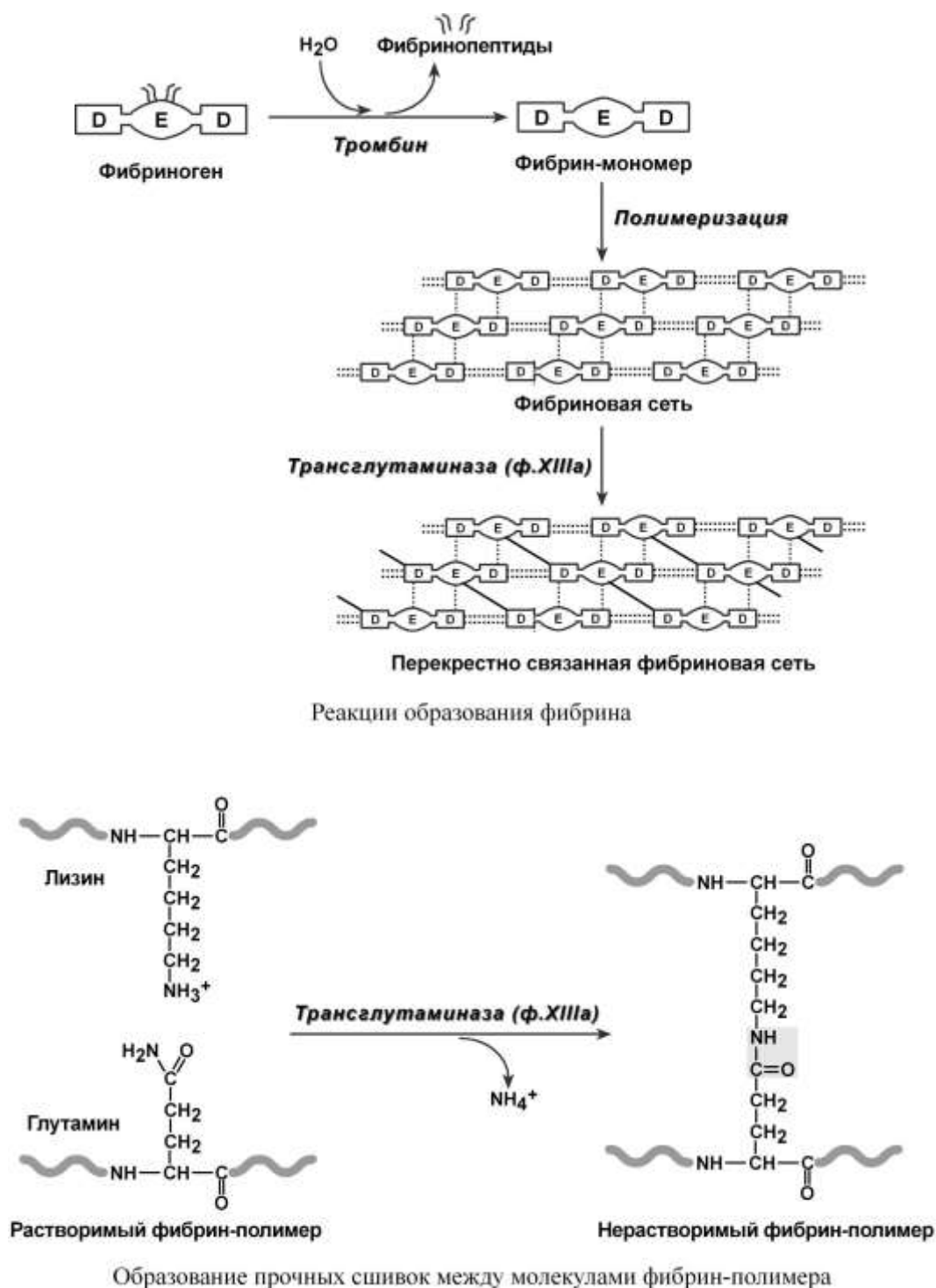
2.3.3. Формирование фибринового сгустка

После появления большого количества **тромбина** начинается превращение фибриногена в фибрин. При этом тромбин отщепляет конечные последовательности А и В в α - и β -цепях фибриногена с образованием растворимых **фибрин-мономеров**. После этого спонтанно начинается латеральная ассоциация фибрин-мономеров с образованием олигомеров и, в конечном итоге, еще **непрочного фибрин-полимера**.

Фактор XIIIa (фибрин-стабилизирующий фактор, трансглутаминаза) в присутствии ионов Ca²⁺ образует амидные связи между остатками лизина одной молекулы фибрина-полимера и остатками глутамина другой молекулы, чем связывает нити фибрин-полимера друг с другом. Ковалентно сшитые между собой нити фибрина образуют **прочную** трехмерную сеть, в которую включены тромбоциты, эритроциты и лейкоциты.

Также трансглутаминаза прикрепляет фибрин к **фибронектину**, прочно связанному с другими молекулами внеклеточного матрикса. В результате тромб оказывается прикрепленным к матриксу в области поврежденной стенки сосуда.

В это время активированные тромбоциты, связанные с нитями фибрина через рецепторы GPIIb/IIIa, сокращаются под действием **тромбостенина** – происходит **ретракция**. Сгусток крови уплотняется, из него выдавливается часть сыворотки. Формирование окончательного тромба наступает на 10-15-й минуте после полимеризации фибрина.



3. АНТИКОАГУЛЯНТНАЯ СИСТЕМА

Тромбоцитарный конгломерат в зоне поражения постоянно увеличивается за счет дегрануляции и выброса новых порций стимуляторов из вовлекаемых в процесс интактных тромбоцитов. Этот процесс мог бы долго распространяться по стенке сосуда, если бы не был ограничен рядом факторов.

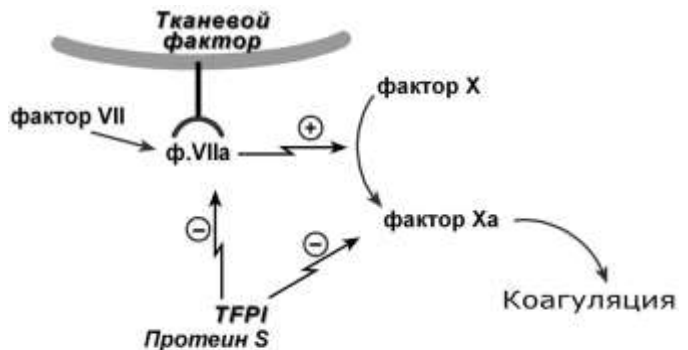
Например, в ответ на выделение АДФ из агрегирующих тромбоцитов в неповрежденном эндотелии включается арахидоновый каскад и образуется **простагландин PG I₂** (простациклин), который препятствует дальнейшей агрегации тромбоцитов и подавляет коагуляцию за пределами поврежденного участка сосуда.

Кроме указанного, формирование тромба только в зоне повреждения обеспечивается

- связыванием тромбина с **тромбомодулином** неповрежденного эндотелия,
- активацией системы **протеина С**,
- секрецией **антитромбина III** и **TFPI** неповрежденными эндотелиоцитами,
- наличием на неповрежденном эндотелии **гепарина**,
- связыванием тромбина и фактора Ха фибрином сгустка, что локализует реакции свертывания,
- позднее, после активации фибринолиза, продукты деградации фибрина ингибируют агрегацию тромбоцитов и самосборку фибрин-мономеров.

Ингибитор пути тканевого фактора

Ингибитор пути тканевого фактора (*tissue factor pathway inhibitor, TFPI*) синтезируется эндотелиальными клетками, тромбоцитами, моноцитами, фибробластами, гладкомышечными клетками и кардиомиоцитами. Основная функция белка – ингибирование фактора **VIIa**, связывающегося с тканевым фактором, и фактора **Xa**. Кофактором TFPI является протеин S.



Роль ингибитора пути тканевого фактора

Протеины С и S

Выходя из зоны коагуляции, тромбин взаимодействует с мембранным белком неповрежденного эндотелия **тромбомодулином**. При связывании с ним тромбин теряет прокоагулянтную активность, т.е. способность образовывать фибрин и активировать фактор XIII, и приобретает антикоагулянтные свойства (тромбиновый парадокс). Комплекс **тромбин-тромбомодулин** активирует антикоагулянтный **протеин С**, который подавляет работу PAI-1 (ингибитор активатора плазминогена), и который также, при помощи протеина S, ингибирует факторы Va и VIIIa.

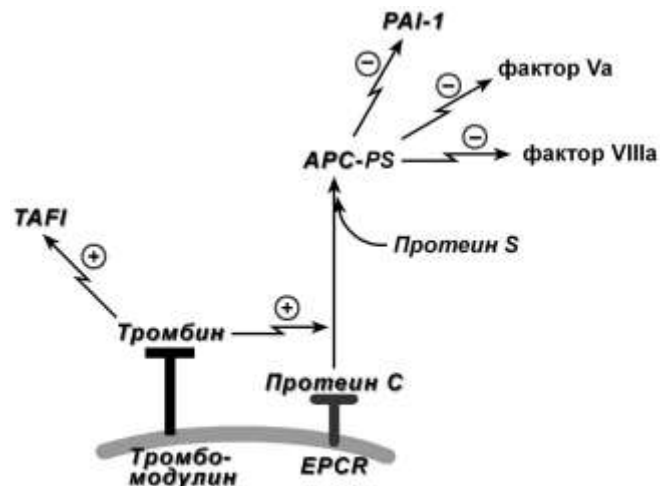
Система протеина С включает в себя сериновую протеазу **протеин С**, его кофактор **протеин S** и **мембранный рецептор** к протеину С (EPCR, *endothelial cell protein C receptor*). Протеины С и S синтезируются в печени при участии витамина К.

Функции протеина S (PS):

- является кофактором **TFPI** (ингибитор пути тканевого фактора), подавляющего TF-VIIa и ф.Ха.

Функции активного протеина С (APC) заключаются в том, что он:

- инактивирует PAI-1,
- является ингибитором факторов Va и VIIIa, которые стали доступными для ингибирования после эффекта TFPI (устранилось связывание их с Ха и XIa).

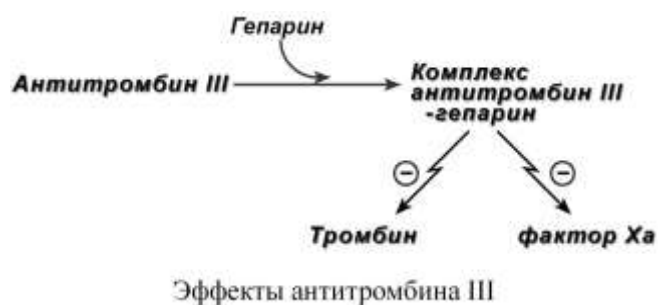


Роль тромбина и системы протеина С

Антитромбин III

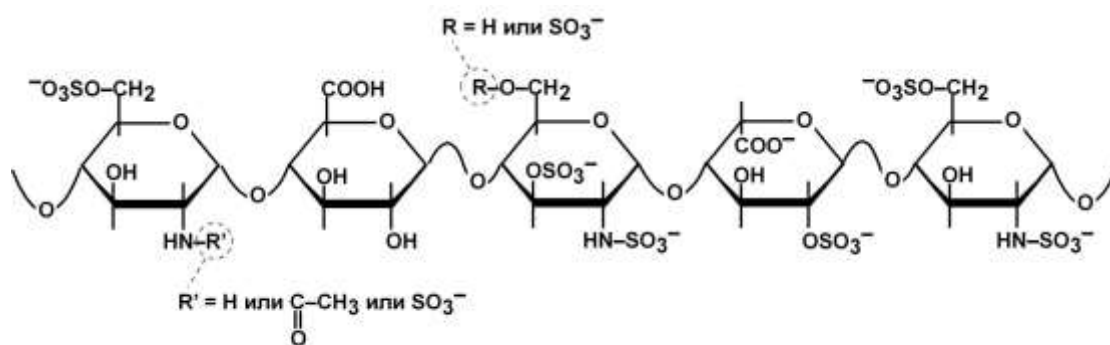
Антитромбин III синтезируется в печени, его активирующим кофактором является **гепарин**. Главной функцией является инактивация тромбина (ф.Па) и фактора Ха, гораздо менее значимо воздействие на факторы IXа, XIа, XIIа, калликреин, комплекс ТФ-VIIа.

Антитромбин III относится к семейству **серпинов** (*serine proteinase inhibitor*) – ферментов, ингибирующих протеазы. Особенностью этих антипротеаз является ковалентное связывание с активным центром атакуемого фермента, после чего сформировавшийся комплекс элиминируется. Таким образом, каждый серпин выполняет свою функцию один раз в жизни.



Гепарин

Гепарин – кислый серусодержащий гликозаминогликан с большим отрицательным зарядом, способен связываться со катионными участками антитромбина III. В результате антитромбин III активируется и способен инактивировать факторы свертывания (II, IX, X, XI, XII), калликреин, другие сериновые протеазы.



Антитромбин-связывающий участок гепарина

4. СИСТЕМА ФИБРИНОЛИЗА

В процессе образования гемостатической пробки активируются механизмы направленные на ограничение роста тромба, его растворение и восстановление тока крови. Все это выполняет система фибринолиза. Фибринолизом называется процесс лизиса тромба или сгустка фибрина.

Система фибринолиза состоит из **ферментов**, неферментативных белковых **кофакторов** и **ингибиторов** фибринолиза. Конечной целью этой системы является образование фибринолитического фермента **плазмина** и разрушение фибринового сгустка.

В систему входит 18 белков и среди них:

1. **Плазминоген** – профермент, из которого образуется белок плазмин, расщепляющий фибрин. Активируется активаторами плазминогена (РА) и фактором XIIа.
2. **Активаторы плазминогена** тканевого типа (t-РА, *tissue plasminogen activator*) и урокиназный (u-РА, *urokinase plasminogen activator*) – ферменты (сериновые протеазы), превращающие плазминоген в плазмин. **Тканевой активатор плазминогена** (t-РА) выделяется эндотелием, моноцитами, мегакариоцитами. **Урокиназный активатор плазминогена** продуцируется эпителиальными клетками почечных протоков, юкстагломерлярными клетками, фибробластами, макрофагами, эндотелиоцитами.

3. **Фактор XII** (фактор Хагемана) – контактный фактор, активатор плазминогена и прекалликреина.
4. **Прекалликреин** – контактный фактор, фактор Флетчера, профермент калликреина, катализирующего образование кининов, но для этого должен сначала активироваться фактором Хагемана (ф.XIIa).
5. **Высокомолекулярный кининоген** (ВМК, фактор Фитцджеральда) – в кровотоке находится в комплексе с фактором XII, является рецептором прекалликреина.

Преобразование плазминогена в плазмин

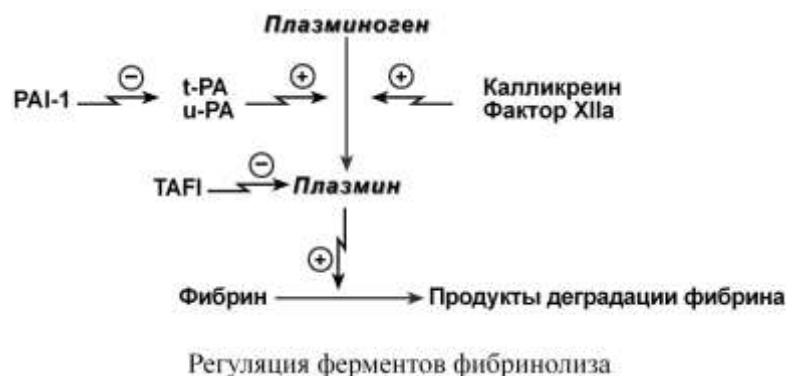
Ключевым ферментом является **плазмин**, гидролизующий фибрин до растворимых продуктов. **Активаторы превращения** плазминогена в плазмин образуются сосудистой стенкой (внутренняя активация) или тканями (внешняя активация).

Внутренний механизм активации разделяют на Хагеман-зависимый (XIIa-зависимый) и Хагеман-независимый (XIIa-независимый):

- **Хагеман-зависимый** фибринолиз происходит под влиянием фактора XIIa, калликреина и высокомолекулярного кининогена (ВМК). Этот путь носит срочный характер и необходим для очистки сосудистого русла от нестабилизированного фибрина, который образуется в процессе внутрисосудистого свертывания кров и.
- **Хагеман-независимый** фибринолиз осуществляется калликреином и ВМК, но без фактора Хагемана.

Внешний путь активации, **доминирующий**, осуществляется при участии активаторов плазминогена t-PA и u-PA (урокиназы).

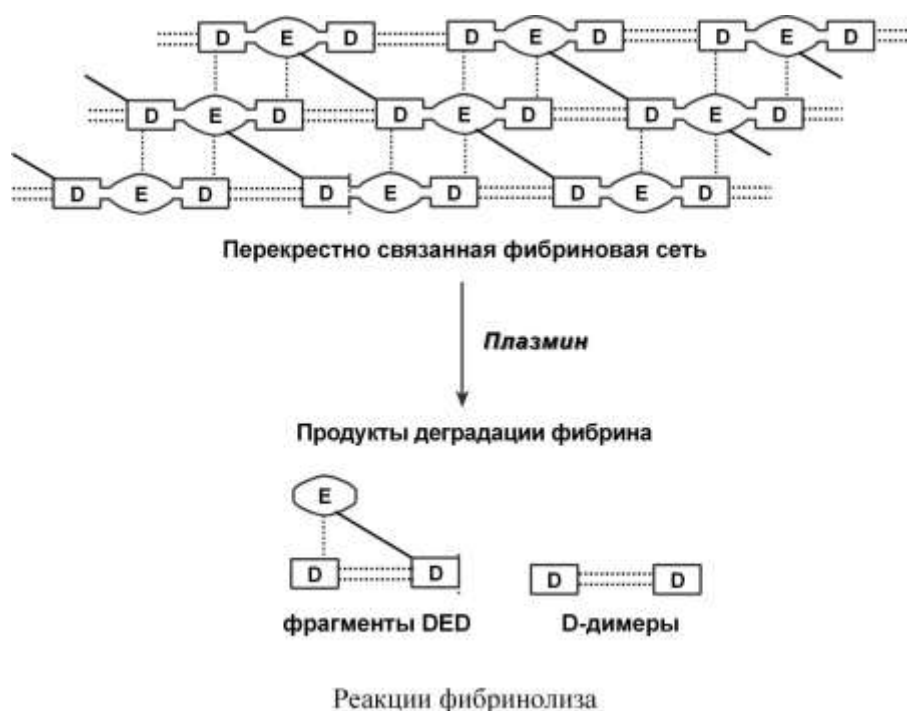
Связывание плазминогена и его активаторов происходит на фибриновом сгустке и обеспечивает локальное образование плазмина.



Распад фибрина и фибриногена

Плазмин является очень активной и в то же время относительно неспецифичной сериновой протеазой, которая разрушает фибрин и фибриноген. Образующиеся вследствие этого молекулы, имеющие разную молекулярную массу, обозначаются как продукты деградации фибрина. Ими в основном являются комплексы **DDE** и **D-димеры**.

Некоторые продукты деградации обладают выраженной физиологической активностью – они снижают агрегацию тромбоцитов и нарушают полимеризацию фибрин-мономеров, являясь, в сущности, **антикоагулянтами**.



Ингибиторы фибринолиза

Ингибитор активатора плазминогена 1-го типа (PAI-1, *plasminogen activator inhibitor-1*) – основной ингибитор фибринолиза, синтезируется эндотелием сосудов. Белок специфично ингибирует эффект t-PA и u-PA, препятствуя их взаимодействию с плазминогеном. В свою очередь сам PAI-1 ингибируется **протеином С**. Таким образом, протеин С не только подавляет коагуляцию (через инактивацию факторов Va и VIIIa), но и усиливает фибринолиз.

α 2-Антиплазмин – фермент (сериновая протеаза), быстродействующий ингибитор плазмина. Он мешает плазминогену адсорбироваться на фибрине, снижая количество образующегося плазмина на поверхности сгустка и тем самым резко замедляя фибринолиз.

α 2-Макроглобулин – инактивирует **тромбин**, **XIIa** и **плазмин**. Механизм ингибирования заключается в образовании комплекса α 2-макроглобулин+протеаза, который затем переносится в печень.

Активируемый тромбином ингибитор фибринолиза (TAFI, *thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor*), активируется тромбин-тромбомодулиновым комплексом. TAFI разрушает **каталитическую поверхность фибрина**, необходимую для действия t-PA. Кроме того, в более высокой концентрации TAFI **прямо ингибирует плазминоген**, что предотвращает преждевременный лизис тромба.

5. ЗАБОЛЕВАНИЯ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА

Заболевания, связанные с гипокоагуляцией

Тромбоастения Гланцмана – аутомно-рецессивное заболевание, развивается при врожденном дефиците рецептора GPIIb/IIIa, в результате тромбоциты не способны связаться с фибриногеном. Характеризуется тяжелыми рецидивирующими кровотечениями слизистых.

Болезнь Бернара-Сулье – аутомно-рецессивное заболевание, при котором развивается дефицит рецептора GPIb, что приводит к кровоточивости десен, тяжелым менструальным кровотечениям, носовым кровотечениям.

Болезнь Виллебранда – аутомно-доминантное заболевание, характеризующееся эпизодическими спонтанными кровотечениями в результате недостаточности фактора Виллебранда, обеспечивающего адгезию тромбоцитов в месте повреждения сосуда.

Гемофилия А – аутосомно-рецессивное заболевание, связанное с врожденным дефицитом фактора VIII и нарушением активации плазменных фактора IX и, следовательно, фактора X.

Гемофилия В – аутосомно-рецессивное заболевание, связанное с врожденным дефицитом фактора IX и нарушением активации плазменного фактора X.

Гемофилия С – заболевание, связанное с врожденным дефицитом фактора XI и, следовательно, нарушением активации плазменного фактора IX.

Тромбоцитопении:

- приобретенные, например, при ДВС-синдроме (повышенное **потребление** тромбоцитов), при системной красной волчанке (повышенное **разрушение** тромбоцитов),
- наследственные, например, синдром Вискотта-Олдрича, редкое X-сцепленное рецессивное заболевание.

Заболевания, связанные с гиперкоагуляцией

Состояния, связанные с гиперкоагуляцией, встречаются часто, проявляются как тромбофилии и могут быть связаны с наследственными и приобретенными факторами.

Гипергомоцистеинемия развивается в результате генетических дефектов ферментов превращения гомоцистеина или при гиповитаминозах B6, B9, B12.

Антифосфолипидный синдром связан с развитием аутоиммунной реакции на отрицательно заряженные фосфолипиды мембран тромбоцитов, эндотелия и т.п. Проявляется тромбозами вен и артерий, у женщин – привычным выкидышем, тромбозом сосудов плаценты, гибелью плода.

ДВС-синдром – диссеминированное внутрисосудистое свертывание, синдром обусловлен активацией свертывающей системы крови и тромбоцитарного гемостаза с последующим истощением этих систем и всех остальных – фибринолитической, ренин-ангиотензиновой, калликреин-кининвой, комплемента. Отражает срыв механизмов гемостаза и генерализацию процесса коагуляции.