

Первая фаза – инициация (initiation) коагуляции

Инициация свертывания крови начинается в ответ на повреждение стенки сосуда и дисфункцию эндотелия, вызываемых артериальной гипертензией, продуктами курения, свободными радикалами, окисленными липопротеинами, иммунными комплексами, бактериальными токсинами, вирусной инфекцией, цитокинами (TNF, IL-1 и др.), баллонной ангиопластикой и другими факторами.

Повреждение сосудистой стенки стремительно в течение нескольких секунд запускает процесс свертывания крови по внешнему пути. Обнажение субэндотелиальных структур, экспрессия ф. III из поврежденных и неразрушенных клеток (гладкомышечные, фибробласты, макрофаги), находящихся в зоне повреждения, приводит к образованию активного комплекса ф. III+ф. VIIa. В ходе активации ф. VII происходит конформационная перестройка его молекулы, в результате формируется активный центр этого белка-фермента. Важно, что ф. VIIa без ф. III обладает очень низкой протеолитической активностью, которая на несколько порядков усиливается в присутствии ф. III. Активация ф. VII, а также все последующие реакции до активации протромбина протекают на матрице, которая состоит из липопротеиновых фрагментов мембран клеток, в первую очередь тромбоцитов.

Ф. VIIa образует комплекс с тканевыми фосфолипидами и Ca^{2+} . Комплекс ф. III-ф. VIIa активирует ф. X и ф. XI путем ограниченного протеолиза. Они становятся активными протеазами – ф. Xa и ф. XIa.

В свою очередь ф. XIa активирует ф. IX, ф. VIII. На поверхности активированных тромбоцитов образуется теназный комплекс - ф. IXa+ф. VIIIa, который обеспечивает образование ф. Xa. Существует дополнительная возможность активации ф. IX и XI комплексом ф. III+ф. VIIa (петля Джоссо), это способствует усилению образования протромбиназы по внутреннему пути.

При контакте с субэндотелиальными компонентами, в частности с коллагеном, поврежденной сосудистой стенки начинается медленная, в течение 40-60 секунд и более, активация ф. XII. Это так называемый внутренний путь свертывания крови. Процесс активации ф. XII усиливается калликреином.

Последовательные реакции образования сериновых протеаз по внешнему и внутреннему путям завершаются формированием на поверхности субэндотелиальных структур протромбиназного комплекса - ф. Xa+ф. Va+ Ca^{2+} . Ф. Va играет роль кофактора.

Вторая фаза – усиление (amplification) коагуляции

Протромбиназа - ф. Xa+ф. Va+ Ca^{2+} - обеспечивает протеолиз протромбина (ф. II) с образованием небольшого количества тромбина (ф. IIa). Это процесс протеолитического расщепления протромбина, благодаря чему появляется фермент класса гидролаз - тромбин (ММ~40.000 Д). Микромолярные количества тромбина связываются с соответствующими рецепторами на поверхности активированных и неактивированных тромбоцитов. Этого количества тромбина достаточно для усиления процесса свертывания крови путем активации тромбоцитов и трансформации в активную форму дополнительного количества фф. XI, VIII, V, но не достаточно для расщепления фибриногена до фибрина и соответственно для остановки кровотечения.

Это свойство системы гемостаза ограничивать образование тромбина на начальном этапе свертывания крови представляется важным, в первую очередь, для предотвращения развития тромбоза, в основе которого,

как и при формировании гемостатической пробки, лежит образование фибрина. В противном случае любое повреждение сосудистой стенки с экспозицией ф. III могло бы стать причиной тромботических осложнений.

Важно отметить, что неактивированные и активированные тромбоциты имеют для связывания с тромбином гликопротеиновый рецептор GPIb-V-IX, который активируется протеазой (protease-activated receptor, PAR1). Включение различных сигнальных путей при тромбиновой активации приводит к перестройке структуры фосфолипидной мембраны тромбоцитов с экспозицией фосфатидилсерина, стимуляции ее коагуляционной активности и, в конечном итоге, к реакции высвобождения. Из гранул тромбоцитов высвобождаются гемостатически активные субстанции, в том числе и те, которые содействуют распространению процесса свертывания крови. Тромбин, связанный с рецептором GPIb-V-IX тромбоцитов, активирует ряд прокоагулянтов, в том числе ф. V, который выделяется в процессе секреции из α -гранул тромбоцитов и остается на их поверхности.

Интересно, что GPIb-V-IX служит рецептором не только для тромбина. Он, прежде всего, служит местом связывания для ф. W. Места для ф. W и тромбина на GPIb-V-IX различны, поэтому оба белка могут связываться с этим рецептором одновременно. Связывание ф. W с GPIb-V-IX обеспечивает адгезию тромбоцитов к месту повреждения сосудистой стенки и частичную их активацию. Поскольку ф. W циркулирует в плазме в виде комплекса ф. W+ф. VIII, то, связываясь со своим специфическим рецептором GPIb-V-IX, он локализует и ф. VIII на тромбоцитарной поверхности. Под воздействием рядом расположенного тромбина происходит диссоциация комплекса. Локализованный на поверхности кровяных пластинок ф. VIII активируется тромбином.

Тромбин, образующийся под воздействием комплекса ф. III:VIIa, также активирует и ф. XI, который связывается с поверхностью активированных тромбоцитов через цепь GPIba комплекса GPIb-V-IX. Таким образом, минимальные количества тромбина, образующиеся на клетках, несущих ф. III, обеспечивают в процессе второй фазы усиление процесса свертывания крови за счет активации тромбоцитов и трансформации в активную форму ф. XI, ф. VIII, ф. V.

Ограничение образования тромбина на поверхности субэндотелиальных структур, несущих ф. III, находится под контролем специфического ингибитора пути ф. III (tissue factor pathway inhibitor - TFPI), ATIII и конкурентным связыванием неактивного ф. VII с ф. III. Приоритет в ограничении образования тромбина под действием комплекса ф. III+VIIa принадлежит TFPI. Он синтезируется эндотелиальными клетками и проявляет свое действие исключительно в месте образования комплекса ф. III+VIIa. Первоначально ф. Xa связывается с TFPI. Образование комплекса TFPI+Xa значительно увеличивает ингибиторный эффект, поскольку TFPI+Xa с более высокой активностью, чем один TFPI, связывается с ф. III+VIIa. По альтернативной модели TFPI связывается с ранее сформированным тройным комплексом ф. III+VIIa+Xa.

Образование тетрамолекулярного комплекса ф. III+VIIa+TFPI+Xa очень быстро снижает прямую активацию ф. X на поверхности субэндотелиальных структур и таким образом выполняет важную регуляторную функцию в формировании тромба и предупреждении избыточного тромбообразования. Дополнительный вклад в ограничение процесса вносит ATIII, который ингибирует не только тромбин, но и ф. Xa в момент перехода их с поверхности клеток, несущих ф. III в окружающую среду.

Итак, повреждение эндотелия и последующий контакт ф. III с кровью приводит к образованию активного комплекса ф. III+VIIa, что принято считать критическим событием для активации всего коагуляционного каскада. Малое количество тромбина, которое образуется на клетках, несущих ф. III, хотя и недостаточно для образования гемостатически полноценного количества фибрина, однако существенно для завершения процесса свертывания крови.

Третья фаза – распространение (propagation) коагуляции

Процесс коагуляции переходит в фазу распространения, когда достигается оптимальная активация тромбоцитов. Этому способствуют уникальные свойства тромбоцитов, которые объясняются наличием на их поверхности высоко аффинных рецепторов для неактивных и активных ф. XI, ф. IX, ф. VIII, ф. V, ф. X, ф. II.

Для этой фазы характерно формирование теназного (ф. IXa+ф. VIIIa) и протромбиназного (ф. Xa+ф. Va+Ca²⁺) комплексов на поверхности активированных тромбоцитов и последующее образование достаточного количества тромбина, способного сформировать сгусток фибрина.

Установлено, что активация ф. IX достигается двумя путями. Первый путь обеспечивается ф. III+VIIa. Образующийся при этом ф. IXa переходит с клеток, несущих ф. III, на поверхность рядом расположенных тромбоцитов. При этом активность фактора сохраняется, поскольку он не подвержен действию TFPI и очень медленно ингибируется ATIII и другими плазменными ингибиторами протеаз.

Однако образование критического количества ф. IXa, необходимого для остановки кровотечения, происходит под влиянием ф. XIa, связанного с тромбоцитами. Тромбин, образующийся под воздействием комплекса ф. III+VIIa, активирует ф. XIa. Место фиксации ф. XIa на активированных тромбоцитах – это GPIIb, что обеспечивает оптимальные условия его активации тромбином, который также связывается с комплексом GPIIb+ф. V+ф. XIa.

Именно активированный на поверхности тромбоцитов ф. XIa обеспечивает активацию ф. IX, что в значительной степени увеличивает коагуляционный потенциал ф. IX. Это может объяснить, почему отсутствие тромбоцитарного рецептора GPIIb при болезни Бернара-Сулье ведет к снижению ф. XI, зависящего от образования тромбина.

Образование на поверхности тромбоцитов теназного комплекса ф. IXa+ф. VIIIa приводит к активации ф. X со скоростью, превышающей в 50-100 раз активацию ф. X под влиянием комплекса ф. III+VIIa.

Протромбиназный комплекс ф. Xa+ф. Va+Ca²⁺, который формируется на поверхности активированных тромбоцитов, инициирует протеолиз протромбина с образованием большого количества тромбина. Тромбин соскальзывает с тромбоцитарной мембраны и, обладая высокой аффинностью к фибриногену, фиксируется на нем и расщепляет его до фибрина. При этом тромбин активирует ф. XIII, что приводит к образованию нерастворимого фибрина, необходимого для обеспечения гемостатически адекватного сгустка.

Преобразование фибриногена в фибрин является основной функцией тромбина, но не единственной.

Регулирующая роль образованного тромбина проявляется в том, что он расщепляет протромбин до неактивного протромбина 1 и тем самым препятствует образованию новых порций тромбина.

Тромбин по механизму обратной связи усиливает агрегацию тромбоцитов, реакцию высвобождения,

синтез TgA₂, вызывает частичный протеолиз фф. V, VIII, X. Тромбин проявляет также неферментативные свойства. Он связывается с рецепторами лейкоцитов и стимулирует хемотаксис. Тромбин вовлекается в процессы заживления ран, участвует в регуляции процессов ангиогенеза и митоза.

Таким образом, скорость образования тромбина во время третьей фазы исключительно зависит от количества ф. Xa, который образуется на фосфолипидной поверхности активированных тромбоцитов под действием теназного комплекса – ф. VIIIa+IXa. Это дает возможность понять, почему внешний путь генерации ф. Xa не корригирует нарушение гемостаза у больных гемофилией, у которых имеется снижение активности ф. VIII или ф. IX.

Генерация тромбина в фазу инициации при дефиците ф. VIII или ф. IX не нарушается, поскольку зависит только от комплекса ф. III+VIIa. На клетках, несущих ф. III, образуется незначительное количество тромбина, которое не обеспечивает образование гемостатически эффективного сгустка фибрина. Вероятно, это обусловлено приоритетной активностью TFPI, который ограничивает активность внешнего пути и образование комплекса ф. III+VIIa прежде, чем образуется достаточное количество ф. Xa. Кроме того, AT III и TFPI при нормальной концентрации их в плазме столь эффективно ингибируют ф. Xa, что это приводит к сокращению периода его полужизни в пределах 1 минуты. Поэтому для того, чтобы ф. Xa эффективно внедрился в протромбиназный комплекс, он должен быть образован на другой поверхности, где не будет действовать TFPI, а именно на поверхности активированных тромбоцитов в непосредственной близости от фактора Va.

У больных гемофилией вследствие нарушения образования теназного комплекса – ф. VIIIa+ф. IXa - резко снижена активация ф. X на тромбоцитах и, соответственно, генерация тромбина. Введение таким пациентам препаратов, содержащих антигемофильные ф. VIII или ф. IX, оказывает гемостатический эффект за счет восстановления теназного комплекса. Это способствует ускорению активации ф. X и восстановлению до нормального уровня генерации тромбина на поверхности тромбоцитов.

В настоящее время для остановки кровотечений у больных гемофилией и другими геморрагическими диатезами используются препараты, обеспечивающие прямую активацию ф. X на тромбоцитарной поверхности. К таким препаратам относятся препараты: рекомбинантный фактор ф. VIIa (НовоСэвен, при гемофилии А и В), рекомбинантный фактор VIII (Вайлет, Иммунал, Когенэйт, Козйт-ДВИ, Октанат, Рекомбинейт, Фанди, Эмоклот, при гемофилии А), очищенные концентраты фактора IX (Аймафикс, Иммунин, Колайн-80, Октанайн при для гемофилии В), препараты протромбинового комплекса (Аутоплекс, Фейба- при гемофилии В).

Формирование фибринового сгустка

Под влиянием тромбина от фибриногена отщепляются фибринопептиды А и В и образуется фибрин-мономер (рис. 14). Появление фибринопептида А в циркулирующей крови свидетельствует о начальном этапе развития ДВС-синдрома или о латентно протекающем внутрисосудистом свертывании крови.

Из фибрин-мономера путем полимеризации формируются олигомеры и димеры фибрина, из которых за счет продольного и поперечного связывания образуются протофибриллы - легко растворимый фибрин, или фибрин S, быстро лизирующийся под



Рис.14. Образование фибрин-мономера



Рис. 15. Образование нерастворимого фибрина

влиянием протеаз - пламина, трипсина. Далее в процесс образования фибрина включается ф. XIII, который перед этим был активирован тромбином. Ф. XIII в присутствии Ca²⁺ «прошивает» фибрин-полимеры дополнительными поперечными связями, в результате чего появляется стабилизированный фибрин, или фибрин i (insoluble). В результате этой реакции сгусток становится резистентным к фибринолитическим (протеолитическим) агентам и плохо поддается разрушению (рис.15). Заканчивается весь процесс коагуляционного гемостаза ретракцией

фибрина (тромба) под влиянием тромбостенина тромбоцитов (рис.16). В процессе коагуляционного гемостаза образуется красный тромб, в состав которого входят нерастворимый фибрин и клетки крови, в процессе тромбоцитарно-сосудистого гемостаза образуется белый тромб.

Тромбоцитарно-сосудистое и коагуляционное звенья гемостаза запускаются практически одновременно. Главным пусковым звеном является контакт крови с поврежденной стенкой сосуда либо с любой

отрицательно заряженной поверхностью. Тромбоцитарный тромб образуется в течение 2-5 **минут**. Коагуляционный тромб формируется в течение 4-9 минут. Механизмы гемостаза содействуют успешной работе друг друга. Тем не менее, ни одно из звеньев не является абсолютно необходимым для успешной работы другого. Например, тромбоцитарный тромб образуется и у больных гемофилией, а свертывание крови происходит даже при небольшом количестве тромбоцитов. Это свидетельствует об относительной независимости компонентов гемостаза. Размеры тромба, интенсивность его образования и лизиса определяются не только наличием и активностью факторов свертывания, но и функционированием антикоагулянтной и фибринолитической систем организма.

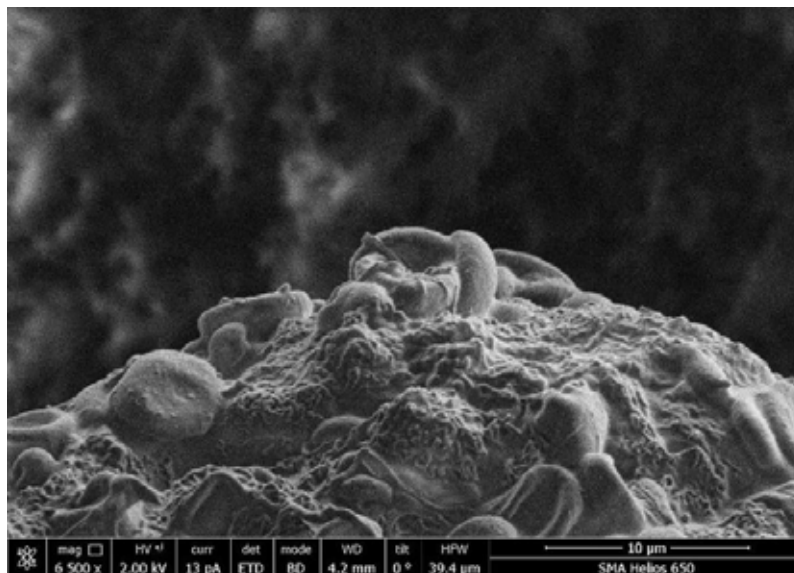


Рис.16. Фибриновый сгусток под электронным микроскопом

Литература

1. Бломбек М. *Нарушения свертывания крови. Практические рекомендации по диагностике и лечению. Медицинская литература.* 2014. 208 с.
2. Бурячковская Л. И., Ломакин Н. В., Сумароков А. Б., Широков Е. А. *Алгоритмы и шкалы риска тромбоза и кровотечения в кардиологии и неврологии. Студия Колор-Бонс.* 2018. 102 с.
3. Давыдкин И. Л., Момот А. П., Зозуля Н.И, Ройтман Е.В. *Основы клинической гемостазиологии и гемореологии. Самара: ООО ИПК «Самарская Губерния», 2017. 484с.*
4. Дементьева И.И., Чарная М.А., Морозов Ю.А. *Патология системы гемостаза. М., ГЕОТАР-Медиа.* 2011. 283 с.
5. Мамаев А.Н. *Практическая гемостазиология. Изд. Практическая медицина.* 2014. 233 с.
6. Пустовалова Л.Н. *О чем говорят анализы? Клинико-лабораторная диагностика в нефрологии. Изд. Феникс.* 2016. 78 с.
7. Ройтман Е.В., Н. Ю. Левшин. *Тромбоз и гемостаз. Шкалы и алгоритмы.* 2016. 112 с.
8. Стуклов Н.И. *Физиология и патология системы гемостаза. ГЭОТАР-Медиа.* 2016. 112 с.
9. Синьков С.В., Заболотских И.В. *Диагностика и коррекция расстройств системы гемостаза. Изд. Практическая медицина.* 2017. 336 с.