

Посвящается светлой памяти выдающегося ученого и клинициста, замечательного человека

Зиновия Соломоновича БАРКАГАН

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ СИСТЕМЫ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ

М.А. Ханин, К.В. Тюрин

Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН

Ключевые слова: система свертывания крови, тромбин, фибрин, антитромбин III, гепарин, тканевой фактор, тромбоциты, фибринолиз, тромбозы, диссеминированное внутрисосудистое свертывание

Основная функция системы свертывания крови (ССК) заключается в предотвращении кровопотери, не совместимой с жизнью. Эта функция ССК сопровождается целым рядом дополнительных требований, предъявляемых к системе.

Структура системы свертывания крови

Каскад ферментативных реакций. Базовую структуру ССК составляют каскады ферментативных реакций. Каскад представляет собой последовательную систему реакций ограниченного протеолиза. Каждая реакция каскада приводит к формированию фермента, являющегося активатором следующей реакции. Физиологическая роль такой системы заключается в создании эффекта усиления. Другими словами, концентрации ферментов увеличиваются вдоль каскада. Это позволяет при малом иницирующем воздействии получить значительную концентрацию терминального продукта — фибрина (Ia). Полимеризация фибрина приводит к формированию тромба.

Основной каскад реакций ССК. В структуру системы свертывания входит два каскада ферментативных реакций. Первый из них (рис. 1) активируется иницирующим фактором, которым является так называемый тканевый фактор (tissue factor — TF) — мембранный рецептор эндотелиальных клеток. В норме (при отсутствии повреждения эндотелия) эти рецепторы обращены в сторону внутренних слоев сосудистой стенки, т.е. не экспонированы к крови. При повреждении эндотелия ориентация TF изменяется, и они оказываются обращенными к крови, что приводит к активации гемокоагуляции. TF образует комплекс с фактором VII свертывания крови [1]. Этот комплекс обладает слабой ферментативной активностью, которая позволяет ему активировать фактор X. С другой стороны, активированный фактор X (Xa) активирует комплекс TFVII, который превращается в комплекс TFVIIa. Последний обладает значительно большей (примерно в 10 раз) ферментативной активностью по сравнению с комплексом TFVII [2]. Приведенные реакции образуют схему, которая называется реципрокной. В результате достигается активация фактора X, активная форма которого в свою очередь активирует протромбин (II) с формированием тромбина (IIa). Тромбин является одним из важнейших ферментов системы свертывания. Он выполняет целый ряд разнообразных функций, которые будут обсуждены ниже. Важнейшая его функция — активация фибриногена (I), которая приводит к формированию фибрина. Фибрин является мономером, который в результате полимеризации образует нити — фибриллы, из которых состоит тромб.

Второй каскад реакций ССК. Комплекс TFVIIa активирует не только фактор X, но и фактор IX (рис. 2) [3–6]. Активированный фактор IX, в свою очередь, активирует фактор X [7]. Наличие двух параллельных каскадов не случайно. Оно не только приводит к ускорению активации гемокоагуляции и формированию тромба, но и повышает надежность системы.

Положительная обратная связь в первом каскаде с участием кофактора Va. Усиление, создаваемое двумя каскадами, оказывается недостаточным для нормального функционирования ССК, поэтому в структуре этой системы имеются также положительные обратные связи, причем в структуру каждого каскада входит своя положительная обратная связь. В одной из них, относящейся

к первому каскаду, участвует кофактор Va (рис. 3). Тромбин активирует фактор V и формирует кофактор Va [8]. Кофактор не является ферментом, но, образуя комплекс с ферментом, в нашем случае — с фактором Xa (XaVa — протромбиназа), существенно повышает его ферментативную активность. Таким образом, при формировании тромбина образуется также и протромбиназа, которая обладает большой ферментативной активностью в реакции активации тромбина. Скорость реакции, в которой участвует протромбиназа, почти в 1000 раз больше, чем при участии фактора Xa [9]. Следовательно, положительная обратная связь приводит к значительному ускорению формирования тромба.

Положительная обратная связь во втором каскаде с участием кофактора VIIIa. Дополнительное усиление связано с действием еще одной положительной обратной связи, которая приводит к повышению усиления во втором каскаде. Тромбин активирует не только фактор V, но и фактор VIII [10] (рис. 4). При этом формируется кофактор VIIIa, который образует комплекс с фактором IXa (IXaVIIIa — теназа). Как и в предыдущем случае, ферментативная активность комплекса практически в 10 000 раз больше, чем у свободного фактора IXa [11]. Физиологическое значение рассматриваемой положительной обратной связи исключительно велико. Это положение иллюстрируют данные, относящиеся к влиянию дефицита фактора VIII на генерацию тромбина и, следовательно, на формирование тромба. При существенном дефиците фактора VIII возникают тяжелые кровотечения (гемофилия А).

Положительная обратная связь, обусловленная активацией фактора XI тромбином. В ССК существует третья положительная обратная связь, которая обеспечивает ускорение активации фактора XI (рис. 5). Было установлено, что в присутствии фибриногена эта обратная связь не функционирует. Однако дальнейшие исследования показали, что в присутствии активированных тромбоцитов эта положительная обратная связь функционирует, и при этом достаточно эффективно [12]. Каталитическая кинетическая константа (число оборотов фермента в единицу времени) активации фактора XI тромбином в присутствии активированных тромбоцитов достигает 86 в 1 мин. К этому следует добавить, что в присутствии активированных тромбоцитов фактор XI обнаруживает способность к автоактивации [12]. Другими словами, активированный фактор XI (XIa) является ферментом, активирующим субстрат — фактор XI. В дальнейшем фактор XIa участвует в активации фактора IX [3, 4, 13–15].

Общая схема активирующей части ССК. Суммируя каскадные ферментативные реакции ССК и положительные обратные связи, мы и приходим к схеме, представленной на рис. 6. Из этой схемы видно, что структура ССК направлена на достижение основного эффекта — быстрого формирования тромба. Эта цель достигается за счет достаточно высокой генерации тромбина при определенной величине каталитической скорости формирования фибрина. Однако для нормального функционирования системы свертывания необходимы также ингибиторы; их роль обсуждается ниже.

Ингибиторы ССК. Как известно, все биохимические системы включают не только активные ферменты, осуществляющие ограниченный протеолиз субстратов, но и ингибиторы, решающие обратную задачу — инактивацию ферментов ССК и их

комплексов. В системе ССК действует несколько ингибиторов, из которых наиболее существенными являются только три — антитромбин III (АТIII), протеин С (РС) и ингибитор внешнего пути (TFPI). Как роль, так и механизм действия этих ингибиторов различны.

Основной ингибитор ССК — АТ III.

АТ III образует неактивные комплексы со многими активированными факторами свертывания (IIa, IXa, Xa, XIa) [16]. Для усиления действия АТ III в ССК присутствует также кофактор АТ III — гепарин. Комплекс гепарина и АТ III характеризуется существенно более высокой константой скорости формирования комплексов с активированными факторами, чем АТ III. Концентрация АТ III в плазме крови весьма высока — 4 мкМ. Интересно заметить, что сумма концентраций факторов свертывания, ингибируемых АТ III в плазме крови, также составляет примерно 4 мкМ. Совпадение этих цифр показывает, что после активации ССК в некотором объеме крови достигается почти нулевая концентрация активированных факторов. Эта особенность системы способствует профилактике тромбозов.

Отрицательная обратная связь и ингибитор — активированный протеин С. В отличие от АТ III активированный РС (PCa) ингибирует активированные факторы благодаря механизму ограниченного протеолиза [17]. Ингибитор PCa возникает при воздействии фермента — тромбина. Однако скорость этой реакции мала. Для ускорения активации PC предназначен комплекс тромбомодулина (ТМ) и тромбина. Тромбомодулин является мембранным рецептором эндотелиальных клеток. В комплексе с тромбином тромбомодулин выполняет функцию кофактора, существенно повышая его активность в активации PC [18]. PCa осуществляет ограниченный протеолиз кофакторов Va и VIIIa, что создает отрицательную обратную связь, которая способствует убыли концентраций активированных факторов. Этот эффект особенно четко проявляется после того, как концентрации активированных факторов (в частности, тромбина), достигли максимума. Другим процессом, ведущим к той же цели, является снижение концентраций проферментов в связи с их активацией при функционировании ССК.

Ингибитор внешнего пути. Особую роль играет ингибитор внешнего пути TFPI. Сначала TFPI формирует комплекс с фактором Xa (TFPIXa), затем это соединение формирует четверной неактивный комплекс с комплексом TFVIIa (TFPIXa—TFVIIa) [19]. Таким образом, ингибитор внешнего пути воздействует на два важных фермента ССК — комплекс TFVIIa и фактор Xa.

Общая схема биохимических реакций ССК. В целом ССК включает в себя каскад ферментативных реакций, приводящих к образованию активного фактора либо к его инактивации, и реакции второго порядка, приводящие к формированию активных либо неактивных комплексов (рис. 7). ССК включает помимо биохимической также клеточную часть — тромбоциты, которые при наличии повреждения стенки сосуда активируются. Кроме того, в функционировании ССК заметную роль играют моноциты, которые экспонируют на своей мембране TF. Влияние клеточных элементов на ССК будет обсуждено ниже.

Функционирование ССК

Запуск ССК крови и роль фактора XII. В начале XX века было принято считать, что существуют два фактора, инициирующих активацию ССК. Первый из них обсужден выше — TF.

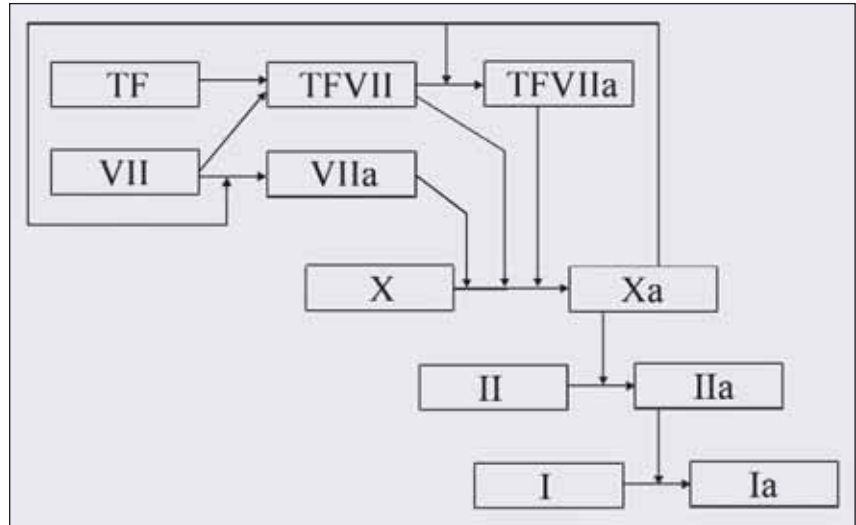


Рис. 1. Схема действия первого усилительного каскада

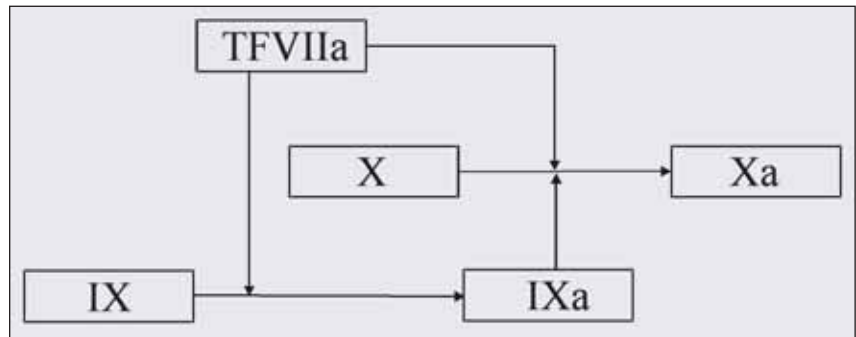


Рис. 2. Схема действия фактора IX

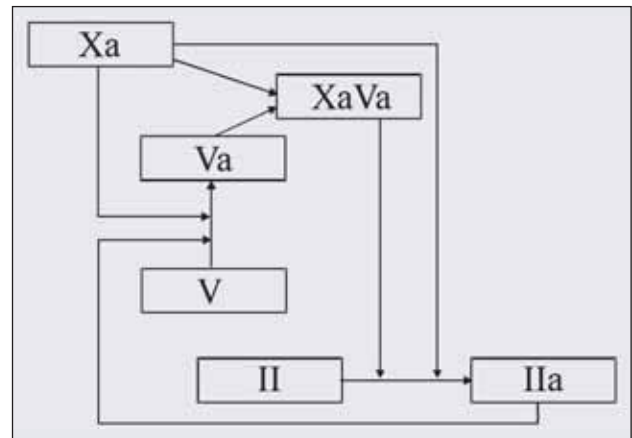


Рис. 3. Схема действия кофактора Va и протромбиназы

Вторым считался фактор XII (фактор Хагемана). В дальнейшем было выяснено, что дефицит фактора Хагемана не приводит к кровотечениям. Более того, известно, что Хагеман (больной, у которого наблюдался дефицит фактора XII) умер не от кровотечений, а от тромбозов. Отсюда напрашивается вывод, что фактор Хагемана в физиологических условиях не играет заметной роли в активации ССК, несмотря на то что реакция активации фактора XI фактором XII, несомненно, существует. По нашему мнению, этот эффект объясняется тем, что на фоне мощной положительной обратной связи, приводящей к активации фактора XI тромбином, активация фактора XI фактором Хагемана не иг-

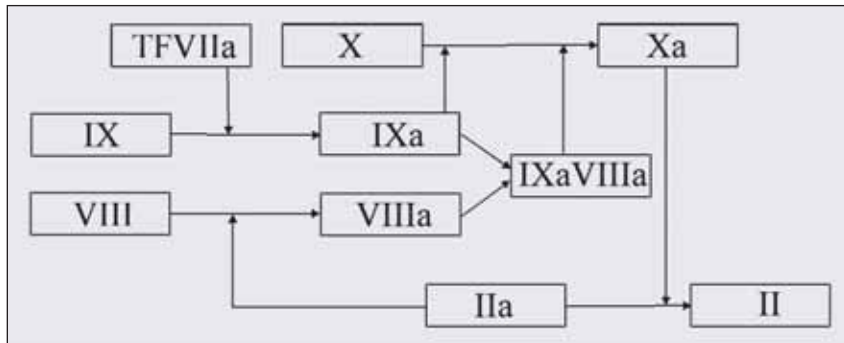


Рис. 4. Схема действия кофактора VIIIa и теназы

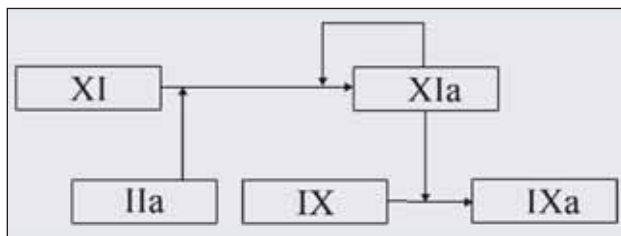


Рис. 5. Схема действия фактора XIa

рает заметной роли.

Сигналом к запуску ССК крови является повреждение сосудистого эндотелия. При таком повреждении клетки эндотелия полностью или частично отрываются от стенки сосуда и экспонируются в плазме крови. На эндотелиальных клетках имеются мембранные рецепторы – TF. Непосредственным сигналом свертывания крови является экспонирование TF в плазму крови.

Это приводит к активации двух каскадов ферментативных реакций, а также реакций образования комплексов. Первичной реакцией является образование комплекса TF и фактора VII (TFVII). Комплекс TFVII обладает слабой ферментативной активностью в отношении фактора X. Иными словами, комплекс TFVII активирует фактор X с образованием фермента – фактора Xa. Однако на этом начальная стадия процесса, в которой участвуют TF и фактор VII, не заканчивается. Фактор Xa способен активировать фактор VII, который, в свою очередь, образует комплекс с TF (комплекс TFVIIa).

Возникший комплекс является активным ферментом, способным активировать фактор X. Таким образом, уже в самой начальной стадии возникает взаимная активация факторов X и комплекса TFVIIa, которую называют реципрокной. Помимо комплекса TFVIIa возникает также фактор VIIa. Этот фактор также способен активировать фактор X, однако его ферментативная активность в отсутствие активированных тромбоцитов весьма мала и не может играть существенной роли.

Роль тромбоцитов в функционировании ССК. Концентрация тромбоцитов в плазме крови в норме достигает $2,5 \times 10^5$ в 1 мм^3 . В зоне повреждения сосудистой стенки тромбоциты активируются, что приводит к изменению формы тромбоцита, экспонированию на его мембране специальных рецепторов, а также целого ряда соединений (фосфолипиды и т. д.). Какие же факторы активируют тромбоциты в зоне повреждения сосудистой стенки? Сразу же отметим, что этот процесс является сложным и многофакторным. В зоне повреждения секретируется АДФ, являющийся индуктором активации тромбоцитов, хотя и сравнительно слабым. Другими индукторами активации тромбоцитов являются

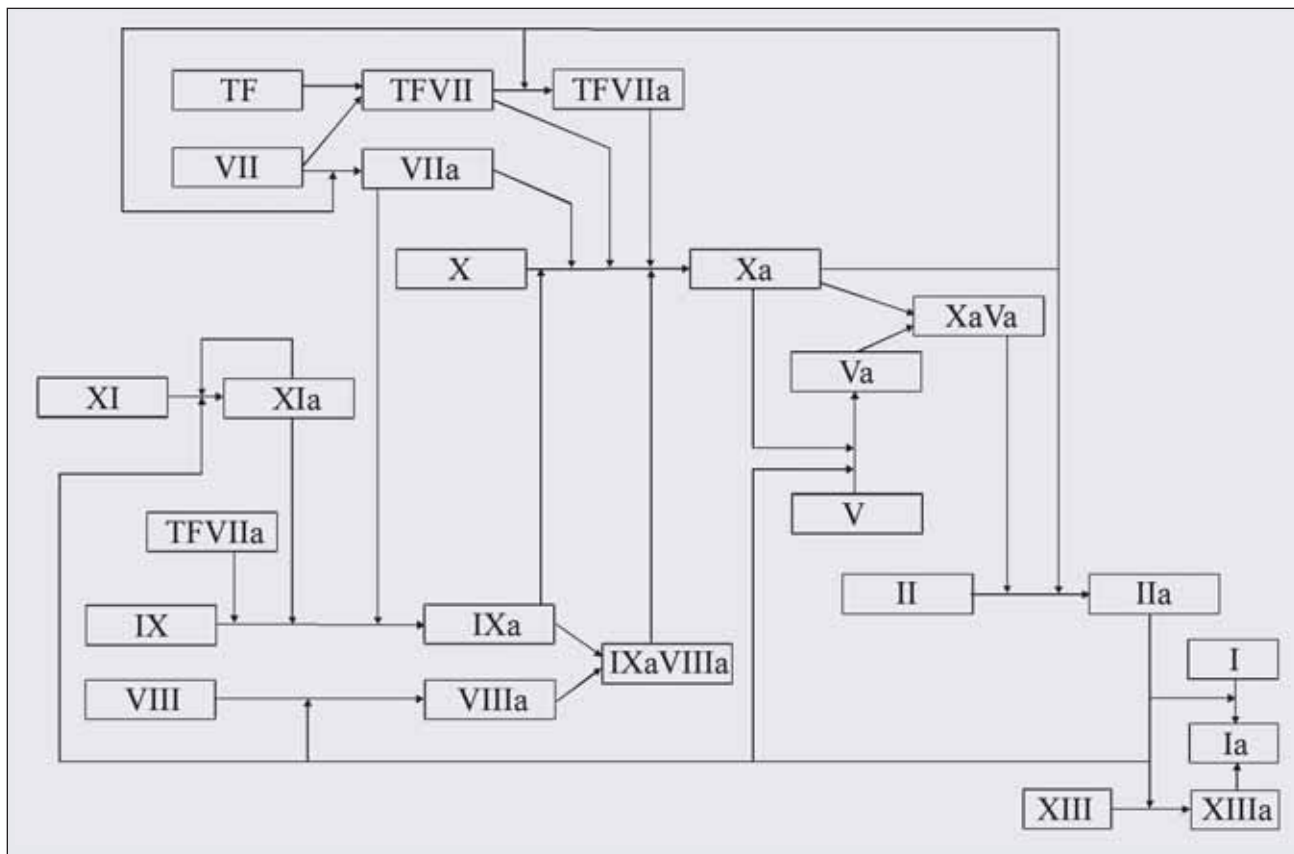


Рис. 6. Общая схема усилительного каскада реакций ССК

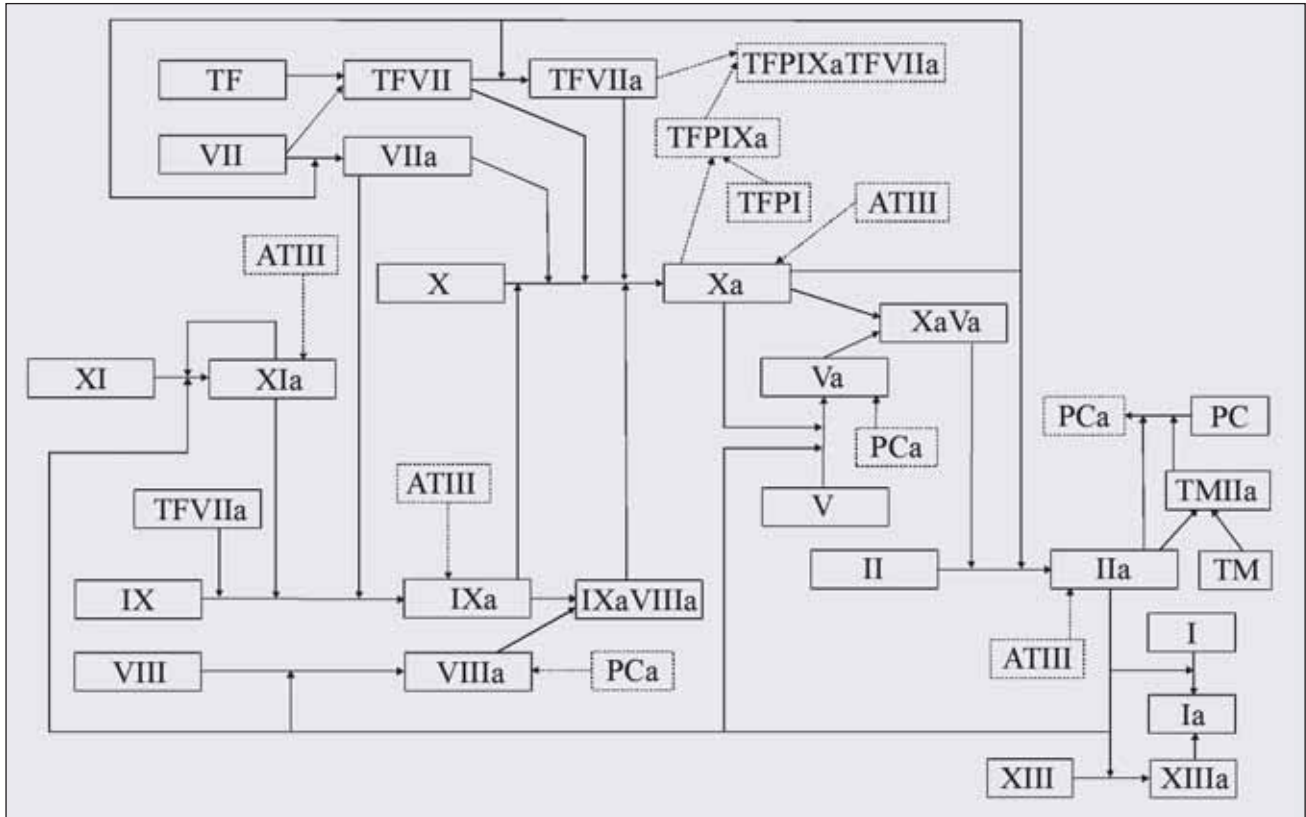


Рис. 7. Общая схема биохимических реакций ССК с учетом ингибирования

ся молекулы нескольких типов коллагена, выступающих прослойку под эндотелиальными клетками. Чем глубже в стенке сосуда находится коллаген, тем большую активность он обнаруживает в активации тромбоцитов. Но и это еще не все. Активированные тромбоциты секретируют тромбоксан A₂, который также является индуктором активации тромбоцитов. Этот процесс приводит как бы к автоактивации тромбоцитов. Тромбоциты активируют также тромбин — сильнейший активатор тромбоцитов, но он появляется только в более поздней стадии, когда весь ферментативный каскад уже функционирует. Таким образом, в зоне повреждения сосудистой стенки образуется область активированных тромбоцитов, которые агрегируют, т.е. образуют первичный зародыш будущего тромба. Возникший зародыш существенно влияет на кинетику дальнейших процессов благодаря наличию на мембранах активированных тромбоцитов рецепторов и других соединений, ускоряющих ферментативные реакции свертывания крови. В некоторых случаях присутствие активированных тромбоцитов моделировалось созданием достаточно высокой концентрации фосфолипидов в растворе. Влияние активированных тромбоцитов приводит к существенному увеличению каталитической константы и к уменьшению константы Михаэлиса, что, естественно, существенно ускоряет процесс.

Важнейшие процессы свертывания крови, такие как сборка и функционирование теназного и протромбиназного комплексов как ферментов, протекают преимущественно на отрицательно заряженных фосфолипидных поверхностях. При этом каталитические константы соответствующих реакций увеличиваются в сотни и тысячи раз. Активированные тромбоциты предоставляют такую поверхность. При активации тромбоцита изменяется распределение фосфолипидов между внутренней и внешней сторонами его мембраны. Активированный тромбоцит экспрессирует отрицательно заряженный фосфатидилсерин, который играет большую роль в ускорении реакций ССК. Есть также данные, указывающие на наличие на мембране тромбоцитов специальных рецепторов, взаимодействующих с факторами свертывания крови. Таким образом, каталитический механизм тромбоцитов обу-

словлен не только отрицательно заряженными фосфолипидами. В любом случае, роль тромбоцитарной мембраны остается бесспорной и важнейшей в активации гемостаза. Надо заметить, что от активированного тромбоцита отделяются фрагменты мембраны (микровезикулы), также предоставляющие прокоагулянтную поверхность. Однако предоставлением поверхности для ускорения ферментативных реакций роль тромбоцитов в функционировании ССК не ограничивается. Интактный тромбоцит содержит микрогранулы. При активации тромбоцита содержимое гранул выбрасывается в плазму крови. В гранулах тромбоцита содержатся такие вещества, как фактор XI, а также частично активированная форма фактора V, называемая «тромбоцитарным фактором V». Тромбоциты содержат около 20% от количества фактора V, содержащегося в плазме крови. Секретция фактора V в зоне роста тромба существенно повышает уровень прокофактора Va, что также ускоряет формирование тромба.

Перечисленные факторы не исчерпывают многогранные функции тромбоцитов. Одной из их функций является регуляция ангиогенеза — роста новых сосудов. Эту физиологическую функцию тромбоциты осуществляют благодаря секреции активаторов и ингибиторов ангиогенеза. Белками, секретируемыми тромбоцитами и способствующими ангиогенезу, являются эндотелиальный фактор роста (VEGF-A), основной фактор роста фибробластов (bFGF) и др. К ингибиторам ангиогенеза, содержащимся в тромбоцитах, относятся тромбоспондин (TSP-1), тромбоцитарный фактор 4 (PF4) и др.

Другой функцией тромбоцитов является обеспечение их адгезии и агрегации в зоне повреждения. Этот процесс, играющий важнейшую роль в активации свертывания крови, в значительной мере ускоряется благодаря секреции тромбоцитами матричных металлопротеиназ — ферментов, которые разрушают белки, входящие в состав внеклеточного матрикса (в первую очередь — коллагены различных типов).

Нельзя игнорировать и секрецию тромбоцитами плазминогена. Этот белок является основным в системе фибринолиза, т.е. разрушения тромба после того, как он выполнил свою функцию.

Была обнаружена и другая роль плазминогена. Установлено, что при ограниченном протеолизе плазминогена формируется ангиостатин — ингибитор ангиогенеза. Ферментами в этой реакции являются многие матричные металлопротеиназы, включая ММР-7, ММР-9, ММР-12. Таким образом, тромбоциты играют основную роль не только непосредственно в активации свертывания крови, но и во многих близких физиологических процессах [20].

Основы механизма запуска ССК. При отсутствии факторов, вызывающих активацию ССК, эта система находится в пассивном, фоновом состоянии, в котором в плазме крови в норме содержатся в определенных концентрациях неактивные факторы свертывания (проферменты и прокофакты) и ингибиторы, а также в малых концентрациях (порядка пМ) — активированные факторы. Фоновое состояние является устойчивым. Если бы это состояние не было устойчивым, то малые отклонения от нормы уровня активированных факторов могли бы приводить к патологическому формированию тромбов, т.е. к тромбозам. Условием запуска ССК, т.е. выхода из фонового состояния и перехода к активному формированию тромба, является потеря устойчивости фонового состояния. Этот эффект может быть достигнут двумя путями. Первым из них является существенное увеличение концентрации инициирующего фактора (ТФ). Второй фактор — участие активированных тромбоцитов. На первом этапе активация тромбоцитов является независимым процессом, который инициируется непосредственно повреждением сосудистой стенки (обнажение слоев коллагена, секреция АДФ). Активированные тромбоциты приводят к резкому увеличению каталитических кинетических констант и снижению констант Михаэлиса всех биохимических реакций свертывания крови, протекающих на мембранах тромбоцитов. Без участия тромбоцитов формирование тромба при физиологических уровнях инициации невозможно. Это можно объяснить, используя понятие порога активации [21, 22]. Иными словами, ССК активируется, если концентрация инициирующего фактора превысит некоторое пороговое значение. Однако само пороговое значение определяется схемой системы и совокупностью кинетических констант. При отсутствии активированных тромбоцитов каталитические кинетические константы малы, а константы Михаэлиса велики, что приводит к высокому порогу активации. Присутствие активированных тромбоцитов приводит к существенному снижению порога активации, что и обеспечивает запуск системы и в дальнейшем формирование тромба.

Формирование фибрина. Заключительный акт формирования тромба — появление фибрилл (нитей фибрина, которые образуют цепи, охватывающие клеточные элементы тромба). В начальный момент тромб является рыхлым и не может служить надежной преградой, предотвращающей кровотечение в зоне повреждения сосудов. Поэтому необходим следующий этап, в ходе которого фактор XIIIa «сшивает» и стягивает нити фибрина, достигая при этом консолидации тромба. Фактор XIII, являющийся проферментом активированного фактора XIIIa, активируется тромбином.

Фибринолиз. После того как тромб выполнил свою функцию, т.е. закрыл повреждение сосуда и остановил кровотечение, возникает необходимость его ликвидации. Эту функцию выполняет система фибринолиза. Основным ферментом, осуществляющим ограниченный протеолиз фибрина, является плазмин. Его присутствие в зоне тромба обеспечивается действием специальной системы, которую называют фибринолитической. В эту систему входят предшественник плазмينا — плазминоген, а также несколько ферментов, являющихся активаторами плазминогена.

При формировании тромба в его состав входит помимо фибрина, тромбоцитов и других клеток также плазминоген. В дальнейшем сосудистый эндотелий секретирует активаторы плазминогена. Важнейшими из них являются тканевый активатор плазминогена (tr-A) и урокиназа. В результате активации плазминогена в объеме тромба формируется плазмин, который посредством механизма ограниченного протеолиза разрушает фибрин. Такой механизм фибринолиза обеспечивает постепен-

ное, послойное разрушение тромба, которое не приводит к образованию эмболов и, следовательно, тромбозов.

Дефицит факторов свертывания и его влияние на функционирование ССК. Одним из наиболее распространенных видов патологии ССК является дефицит различных факторов свертывания, который при достаточно большом дефиците приводит к кровотечениям и, следовательно, кровопотере. Наиболее распространены дефициты факторов VIII и IX (гемофилия А и Б). Дефицит фактора VIII приводит к недостаточному формированию важнейшего фермента ССК — комплекса факторов VIIIa-IXa (теназы). В результате дефицита теназы снижается генерация фактора Ха и, следовательно, тромбина. Это обуславливает, в конечном итоге, формирование неадекватного по размерам тромба. Однако дефицит фактора VIII приводит к заметным клиническим проявлениям только при достаточно малой концентрации этого фактора в плазме крови. Например, 10-кратное снижение концентрации фактора VIII приводит только к сравнительно небольшому снижению генерации тромбина. Максимальная концентрация тромбина уменьшается примерно на 25%, а время достижения максимальной концентрации увеличивается незначительно. Другими словами, наблюдается слабая чувствительность ССК к сравнительно малым дефицитам фактора VIII. Однако при значительных дефицитах фактора VIII (например, при 100-кратном дефиците) генерация тромбина существенно уменьшается. Максимальная концентрация тромбина уменьшается в 5 раз, а время, необходимое для достижения максимума, увеличивается в 2,5 раза. Малая чувствительность ССК к дефициту фактора VIII объясняется наличием двух параллельных путей активации фактора X: теназой и комплексом TFVIIa. На фоне нормальной концентрации TFVIIa активация фактора X теназой играет сравнительно небольшую роль при ограниченном дефиците фактора VIII.

Дефицит фактора IX (гемофилия Б) во многом аналогичен по своим проявлениям дефициту фактора VIII. При этом также наблюдается снижение концентрации теназы и, следовательно, генерации фактора Ха. Слабая чувствительность к дефициту фактора IX наблюдается и в этом случае.

В последние годы наиболее эффективным методом лечения гемофилии А и Б является введение рекомбинантного фактора VIIa (Novoseven, фирма NovoNordisk). В настоящее время механизм высокой эффективности лечения рекомбинантным фактором VIIa еще не вполне выяснен. Как известно, каталитическая константа скорости активации фактора X фактором VIIa *in vitro* сравнительно невелика, что не может объяснить наблюдаемую высокую эффективность этого препарата. Возможно, что высокая эффективность объясняется присутствием активированных тромбоцитов в зоне роста тромба. Их присутствие существенно увеличивает скорость ферментативной реакции активации фактора X рекомбинантным фактором VIIa.

Тромбозы. Одно из самых тяжелых осложнений, сопровождающих патологические состояния ССК, — тромбозы. Фактором, провоцирующим неадекватное образование тромбов, является, в частности, атеросклероз. Атеросклеротические бляшки могут провоцировать рост тромба в зоне повреждения сосуда. Поскольку фактором, инициирующим формирование тромба, является адгезия и агрегация тромбоцитов, разрабатывается и используется в клинической практике целый ряд лекарственных веществ, действие которых основано на снижении способности тромбоцитов к активации и последующей агрегации. Другим возможным методом профилактики тромбозов является использование лекарств, действие которых заключается в увеличении порога активации ССК. К таким лекарственным средствам можно отнести гепарин (кофактор антитромбина), а также рекомбинантный антитромбин. Введение этого ингибитора позволяет снизить концентрацию активированных факторов свертывания (тромбина, фактора X, фактора IX), что приводит к увеличению порога активации ССК. Тромбозы сопровождают также системные заболевания (сепсис, онкологические заболевания).

Диссеминированное внутрисосудистое свертывание (ДВС). Нормальной реакцией ССК на повреждение сосудистой стенки, как уже отмечалось выше, является формирование тромба, состоящего, главным образом, из фибрина и тромбоцитов. Наиболее опасные патологические процессы, свойственные ССК, — тромбозы и кровотечения. Однако в клинической практике распространены и иные патологические процессы свертывания крови, наиболее тяжелым из которых является так называемое ДВС. Этот процесс характеризуется следующими основными признаками:

- отложение фибрина по значительной части поверхности сосудистой системы;
- активация системы фибринолиза;
- существенное снижение концентраций субстратов системы свертывания (протромбина, фибриногена, факторов X, V, VIII, IX, VII и др.) и ингибиторов. Субстраты претерпевают ограниченный протеолиз и формируют ферменты (активированные факторы), которые в дальнейшем инактивируются ингибиторами;
- в связи со снижением концентраций проферментов и прокофакторов снижаются также концентрации активированных факторов. Это приводит к кровотечениям.

Легко заметить существенную взаимосвязь между тремя этапами ДВС. Фибринолиз возникает как ответная реакция на массивное формирование фибрина. Рост концентрации тромбина, в свою очередь, приводит к высвобождению тканевого активатора плазминогена (tPA). tPA в результате ограниченного протеолиза вызывает формирование очень активного фермента — пламина, который, как известно, осуществляет фибринолиз, т.е. ограниченный протеолиз фибрина.

Снижение концентраций проферментов и прокофакторов ССК является прямым следствием ее массивной активации, в ходе которой происходит столь же массивный ограниченный протеолиз этих белковых соединений. Заключительный этап последовательности событий ДВС — сильные кровотечения, обусловленные, как уже отмечалось, значительным снижением концентраций факторов свертывания.

В дальнейшем происходит восстановление уровня факторов свертывания за счет их ресинтеза. Рассмотренный цикл может повториться, если первый цикл ДВС не привел к летальному исходу.

К ДВС приводят многие этиологические факторы, в том числе сепсис, заболевания сосудов, тяжелые инфекционные процессы. Кроме того, причиной ДВС могут быть иммунологические расстройства, а также тяжелые токсические состояния,

болезни печени, онкологические заболевания и многие другие. Осложнения ДВС связаны, в частности, с эмболиями, которые часто сопровождают этот вид патологии. Таким образом, ДВС является генерализованным процессом, имеющим системный характер. Биохимический механизм синдрома ДВС еще не выяснен в полной мере.

К исследованиям, которые подтверждают диагноз ДВС, относятся измерения концентраций факторов свертывания, протромбинового времени, активированного частичного тромбопластинового времени, продуктов разрушения фибриногена. Заметная убыль концентраций факторов свертывания в плазме крови подтверждает диагноз ДВС. Об этом же свидетельствует снижение числа тромбоцитов в крови и концентрации фибриногена [23].

Различают острую и хроническую формы ДВС. В первом случае процесс быстро прогрессирует и сопровождается выраженным снижением концентраций факторов свертывания в плазме крови и кровотечениями. При хронической форме ДВС наблюдается постепенное нарастание диссеминированных тромбозов различной локализации. ДВС как осложнение наблюдается в 7% случаев онкологических заболеваний [24]. Основное внимание при лечении ДВС следует уделять патологическому процессу, являющемуся этиологическим фактором ДВС. Кроме того, в фазе тромбозов применяют антикоагулянты, а в фазе кровотечений — антигеморрагические препараты.

В последние годы в этом качестве успешно применяют реткомбинантный фактор VII (NovoSeven, фирма Nordisk).

Заключение

Структура биохимических реакций ССК может рассматриваться как образец физиологической биохимической системы. Она включает практически все элементы, свойственные этим системам: каскад ферментативных реакций, реципрокные связи, положительные и отрицательные обратные связи, взаимодействие с рецепторами и молекулами, входящими в их состав. Следует отметить автономный характер регуляции ССК. Процесс роста тромба, остановка роста тромба, адекватность размера тромба повреждению сосуда — все это определяется внутренними свойствами биохимической системы с учетом влияния окружающей среды (витамин К, кальций и т.д.). Влияние оказывают также процессы диффузии и конвекции (движения крови). В заключение отметим, что в исследовании механизма ССК существенную роль играют как биохимические методы, так и методы математического моделирования. Последние существенны в выяснении особенностей функционирования ССК как целого.

Л и т е р а т у р а

1. Bjorkquist P., Bostrom S. Determination of the kinetic constants of tissue factor/factor VII/factor VIIa and antithrombin/heparin using surface plasmon resonance. *Thromb Res* 1997;85:225—36.
2. Himber J., Kling D., Fallon J.T. et al. In situ localization of tissue factor in human thrombi. *Blood* 2002;99(11):4249—50.
3. Bajaj S.P. Cooperative Ca²⁺ binding to human factor IX. Effects of Ca²⁺ on the kinetic parameters of the activation of factor IX by factor XI. *J Biol Chem* 1982;257:4127—32.
4. Warn-Cramer B.J., Bajaj S.P. Intrinsic versus extrinsic coagulation: kinetic consideration. *Biochemistry* 1986;22:757—62.
5. Komiyama Y., Pedersen A.H., Kisiel W. Proteolytic activation of human factors IX and X by recombinant human factor VIIa: effects of calcium, phospholipids and tissue factor. *Biochemistry* 1990;29(40):9418—25.
6. Bom V.J.J., Bertina R.M. The contribution of Ca²⁺, phospholipids and tissue factor apoprotein to the activation of human blood coagulation factor X by activated factor VII. *Biochem J* 1990;265(2):327—336.
7. Mertens K., van Wijnagaarden A., Bertina R.M. The role of factor VIII in the activation of human blood coagulation factor X by activated factor XI. *Thromb Haemost* 1985;54:654—60.
8. Monkovic D.D., Tracy P.B. Activation of human factor V by factor Xa and thrombin. *Biochemistry* 1990;29:1118—28.
9. Krishnaswamy S., Church W.R., Nesheim M.E., Mann K.G. Activation of human prothrombin by human prothrombinase. Influence of factor Va on the reaction mechanism. *J Biol Chem* 1987;262:3291—9.
10. Hill-Eubanks D.S., Lollar P. Von Willebrand factor is a cofactor for thrombin-catalysed cleavage of the factor VIII light chain. *J Biol Chem* 1990;265:17854—8.
11. Rawala-Sheikh R., Ahmad S.S., Ashby B., Walsh P.N. Kinetics of coagulation factor X activation by platelet bound factor IXa. *Biochemistry* 1990;29:2606—11.
12. Baglia F.A., Walsh P.N. Thrombin-mediated feedback activation of factor XI on the activated platelet surface is preferred over contact activation by factor XIa or factor XIa. *J Biol Chem* 2000;275:20514—9.
13. Sinha D., Seaman F.S., Walsh P.N. Role of calcium ions and the chain of factor XIa in the activation of human coagulation factor IX. *Biochemistry* 1987;26:3768—75.
14. Soons H., Janssen-Claessen T., Hemker H.C., Tans G. The effect of platelets in the activation of human blood coagulation factor IX by factor XIa. *Blood* 1986;68:140—8.
15. Walsh P.N., Bradford H., Sinha D. et al. Kinetics of the factor XIa catalyzed activation of human blood coagulation factor IX. *J Clin Invest* 1984;73:1392—9.
16. Jordan R.E., Oosta G.M., Gardner W.T., Rosenberg R.D. The kinetics of hemostatic enzyme-antithrombin interactions in the presence of low molecular weight heparin. *J Biol Chem* 1980;255:10081—90.
17. Solymoss S., Tucker M.M., Tracy P.B. Kinetics of inactivation of membrane-bound factor Va by activated protein C. Protein S modulates factor Xa protection. *J Biol Chem* 1988;263:14884—90.

18. Bonniec B.F., Guinto E.R., MacGillivray R.T. et al. The role of thrombin's Tyr-Pro-Trp in the interaction with fibrinogen, thrombomodulin, protein C, antithrombin III, and the Kunitz inhibitors. *J Biol Chem* 1993;268:19055–61.

19. Jesty J., Wun T.C., Lorenz A. Kinetics of the inhibition of factor Xa and the tissue factor - factor VIIa complex by the tissue factor pathway inhibitor in the presence and absence of

heparin. *Biochemistry* 1994;33(42):12686–94.

20. Jurasz P., Alonco D., Castro-Blanco S. et al. Generation and role angiostatin in human platelets. *Blood* 2003;102(9):3217–23.

21. Obratsov I.F., Popov A.F., Khanin M.A. Threshold effect in kinetics of activating the contact system of blood coagulation. *Dokl Akad Nauk* 1999;367(1):130–2.

22. Ataullakhanov F.I., Pohilko A.V., Sinauridze E.I., Volkova R.I. Calcium threshold

in human plasma clotting kinetics. *Thromb Res* 1994;75(4):383–94.

23. Yu M., Nardella B.S., Pechet L. Screening tests of disseminated intravascular coagulation: guidelines for rapid and specific laboratory diagnosis. *Crit Care Med* 2000;28:1777–80.

24. DeSancho M.T., Rand J.H. Bleeding and thrombotic complications in critically ill patients with cancer. *Crit Care Clin* 2001;17:599–622.

РЕКОМБИНАНТНЫЕ ЭРИТРОПОЭТИНЫ В ЛЕЧЕНИИ АНЕМИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

С.В. Воробьева¹, Т.З. Чернявская¹, С.Г. Пушкарева², Г.П. Фролов², К.Н. Мелкова¹

¹ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва; ²ГНЦ Институт биофизики, Москва

В статье на основании данных литературы и собственного опыта освещены основные современные представления о роли рекомбинантных эритропоэтинов в лечении анемии онкологических больных, вопросы переносимости лечения, приведены клинические рекомендации и предупреждения, касающиеся применения данной группы лекарственных препаратов.

Ключевые слова: анемия, эритропоэтин, рч-ЭПО, рекомендации, осложнения, Веро-эпоэтин

RECOMBINANT ERYTHROPOIETIN IN THE TREATMENT OF ANEMIA IN CANCER PATIENTS

S.V. Vorobiova¹, T.Z. Cherniavskaya¹, S.G. Pushkareva², G.P. Frolov², K.N. Melkova¹

¹N.N. Blokhin Cancer Research Center, Moscow, ²State Research Center — Institute of biophysics

This article reviews the role of recombinant erythropoietin in the management of anemia in cancer patients based on literature data and our experience. We describe the problem of toxicity and report clinical recommendations and cautions for usage of drugs appertain to this pharmaceutical group.

Keywords: anemia, erythropoietin, r-HuEpo, recommendations, complications, Vero-epoetin

Современная терапия онкологических больных позволила реально увеличить продолжительность жизни многих пациентов. Этот факт, в свою очередь, привлек внимание к качеству жизни больных и выявил необходимость разработки способов его улучшения.

Анемия, сопутствующая онкологическим заболеваниям, ограничивает физическую активность больного, вызывает слабость, приводит к снижению трудоспособности, т.е. является одним из факторов, ухудшающих качество жизни пациента. В этой связи, естественно, возникает вопрос о необходимости и возможности ее коррекции.

Для определения выраженности анемии у онкологического больного ВОЗ и Национальным институтом рака (NCI, США) предложены две шкалы, представленные в табл. 1. Как видно из таблицы, шкалы несколько различаются только по определению понятий «норма» и «анемия легкой степени».

Анемия разной степени выраженности — частое явление в онкологии. Например, при ретроспективном обзоре большой группы пациентов, получавших лучевую терапию (ЛТ) по поводу колоректального рака, опухоли легкого и опухоли шейки матки, установлено, что к концу лечения анемия (снижение Hb < 12) выявлялась у 67, 63 и 82% больных соответственно [2].

Исторический опыт борьбы с анемией — это опыт гемотрансфузий. К сожалению, терапевтическое использование крови и ее компонентов связано со значительным риском серьезных ос-

ложнений как непосредственных, так и отдаленных: аллергические реакции и аллоиммунизация, гемотрансфузионные инфекции (гепатиты, цитомегаловирусная инфекция, ВИЧ-инфекция, паразитарные инфекции и т.д.), угнетение выработки эндогенного эритропоэтина. Несмотря на значительное улучшение качества обследования доноров на станциях переливания крови в последние годы, проблема трансмиссивных инфекций остается актуальной. Наибольшее клиническое значение имеют такие серьезные инфекции, как вирусные гепатиты и ВИЧ. Частота вирусных гепатитов до настоящего времени остается достаточно высокой, особенно в группе трансфузионно зависимых гематологических больных. Связано это, в том числе, с большим объемом необходимой гемотрансфузионной поддержки (пациенту с гемобластомой может потребоваться переливание компонентов крови более чем от 200 доноров). Поэтому внедрение использования в качестве метода коррекции анемии рекомбинантного человеческого эритропоэтина (рч-ЭПО), альтернативного переливанию донорских эритроцитов, представляется очень важной и актуальной задачей.

Этиология анемии онкологических больных многофакторна, причинами ее возникновения могут быть кровотечения, гемолиз, опухолевая инфильтрация костного мозга, почечная недостаточность, дефициты питания и всасывания, так называемая анемия хронических заболеваний (АХЗ; форма анемии, которая вызывается цитокинами — медиаторами воспаления, угнетающими эритропоэз и продукцию эндогенного эритропоэтина [3]) и раз-

Таблица 1. Шкала степени тяжести токсической анемии

Степень анемии	Тяжесть	Уровень Hb, г/дл шкала ВОЗ	шкала NCI
0		> 11	Норма *
1	Легкая	9,5–10	10 — норма
2	Средняя	8–9,4	8–10
3	Тяжелая	6,5–7,9	6,5–7,9
4	Угрожающая жизни	< 6,5	< 6,5

* Нормальный Hb 14–18 г/дл для мужчин и 12–16 г/дл для женщин [1]