

**Гемостаз** - это функция организма, обеспечивающая, с одной стороны, сохранение крови в кровеносном русле в жидком агрегатном состоянии, а с другой стороны - остановку кровотечения и предотвращение кровопотери при повреждении кровеносных сосудов. Органы и ткани, участвующие в выполнении этих функций, образуют систему гемостаза. Органы и ткани, участвующие в выполнении этих функций образуют систему гемостаза. Элементы системы гемостаза участвуют также в таких важных процессах жизнедеятельности, как воспаление, репарация тканей, поддержание гомеостаза и др. Система гемостаза активно реагирует на различные экзогенные и эндогенные воздействия, может иметь врожденные и приобретенные функциональные нарушения - «болезни системы гемостаза».

Составляющие систему гемостаза компоненты условно можно разделить на **морфологические и функциональные.**

**Морфологические компоненты системы гемостаза:**

- Сосудистая стенка.
  - Тромбоциты и клеточные элементы крови.
  - Плазменные компоненты - белки, пептиды и небелковые медиаторы гемостаза, цитокины, гормоны.
- Костный мозг, печень, селезенка тоже могут рассматриваться как компоненты системы гемостаза, поскольку в них синтезируются и пулируются тромбоциты и плазменные компоненты системы гемостаза.

**Функциональные компоненты системы гемостаза:**

- Прокоагулянты.
- Ингибиторы коагуляции, антикоагулянты.
- Профибринолитики.
- Ингибиторы фибринолиза.

На гемостаз могут оказывать влияние как физиологические, так и нефизиологические (патологические) факторы. К последним относятся бактериальные токсины, яды животных, собственные протеолитические ферменты, в физиологических условиях отсутствующие или имеющиеся в крови в незначительных концентрациях, лекарственные препараты.

Активность разных компонентов системы гемостаза может изменяться в широких пределах из-за генетических особенностей или экзогенных воздействий на организм. Взаимодействие компонентов гемостаза организовано серией механизмов «прямой» и «обратной» связи, которые обеспечивают несвертываемость крови и циркуляцию ее в сосудах в течение всей жизни человека. При относительно низкой или высокой активности какого-либо элемента общая интегрирующая активность гемостаза может оставаться среднефизиологической за счет компенсаторного изменения других компонентов системы. Сохранение общей активности гемостаза в физиологических пределах можно определить как поддержание **гемостатического баланса** (рис. 1). При

смещении гемостатического баланса за рамки физиологических норм возникают условия для развития патологических кровотечений или тромбозов. Хотя механизмы работы системы гемостаза сложны, итог нормальной ее работы прост. При отсутствии повреждения система препятствует свертыванию крови. Часто говорят, что она интактна, однако на сохранение жидкого состояния крови затрачивается много энергии. При возникновении повреждения запускается процесс остановки кровотечения: происходит спазм сосуда, в зоне повреждения начинается процесс свертывания крови. Через короткое время сформированный гемостатический тромб закрывает повреждение и прекращает кровопотерю. На поврежденном участке, защищенном тромбом, происходят процессы репарации. По мере восстановления повреждения тромб лизируется. Система гемостаза возвращается в исходное состояние.

Знакомство с физиологией и патологией системы гемостаза на первый взгляд создает впечатление излишней перегруженности различными элементами. Однако система гемостаза великолепно отрегулирована и способна эффективно функционировать в самых различных физиологических и патологических условиях. Система гемостаза изменяется в процессе онтогенеза, и при ее исследовании необходимо учитывать возраст человека.



**Рис. 1. Гемостатический баланс:** за счет компенсаторного взаимодействия система гемостаза поддерживает кровь в жидком состоянии в течение всей жизни, в то же время при повреждении кровь быстро сворачивается, купируя кровотечение. При смещении гемостатического баланса за рамки физиологических норм возникают условия для развития патологических кровотечений или тромбозов

ролируемое распространение процесса роста тромба приводят к нарушению кровообращения в жизненно важных органах. Возможно также возникновение смешанной проблемы: неконтролируемое тромбообразование приводит к потреблению прокоагулянтов и развитию ишемии и одновременно патологического кровотечения.

Система гемостаза регулируется не только своими внутренними механизмами. Она тесно связана с функционированием организма в целом и меняет свое функциональное состояние в зависимости от состояния макроорганизма. Кровотечение и особенно тромбоз могут быть смертельно опасны для организма. Эти состояния легче предотвратить, чем лечить. Все это диктует необходимость лабораторной оценки состояний системы гемостаза.

Представление о нормальном функционировании системы гемостаза очень условно и не имеет четких рамок. Клинически трудно определить нормальную кровопотерю при каждой

конкретной травме. А резистентность к протромботическим воздействиям вообще клинически оценить нельзя. Человек, не имевший в течение своей жизни ни одной тяжелой травмы, может никогда не узнать, что у него легкая форма коагулопатии. Относительно низкий уровень ингибитора свертывания крови может клинически проявиться тромбозом в старости или во время тяжелого заболевания, и развившийся тромбоз не будет оценен врачом правильно.

Поскольку лабораторные нормы определяют при исследовании здоровых лиц, врачи, как правило, не имеют четких границ нормальных показателей гемостаза. В сложных случаях диагноз строится на анализе лабораторных и клинических данных. Многие компоненты системы гемостаза лабильны, а на результаты анализа влияет целый ряд факторов. Поэтому для решения вопроса о диагнозе в сомнительных случаях необходимо проводить неоднократные исследования с использованием различных методов и реактивов для определения одного и того же показателя.

Ниже мы рассмотрим отдельно разные элементы гемостаза, их взаимодействие и патологические процессы, являющиеся следствием нарушения гемостатического баланса.

## СОСУДИСТАЯ СТЕНКА

Кровь в организме человека протекает по замкнутой системе кровеносных сосудов. Сосуды не только пассивно ограничивают объем циркуляции и механически предотвращают кровопотерю, но и обладают целым спектром активных функций в гемостазе. В физиологических условиях неповрежденная сосудистая стенка способствует поддержанию жидкого состояния крови. Неповрежденный эндотелий, контактирующий с кровью, не обладает свойствами инициировать процесс свертывания. Кроме того, он содержит на своей поверхности и выделяет в кровоток вещества, которые препятствуют свертыванию. Это свойство предотвращает образование тромба на интактном эндотелии и ограничивает рост тромба за пределы повреждения. При повреждении или воспалении стенка сосуда принимает участие в образовании тромба. Во-первых, субэндотелиальные структуры, контактирующие с кровью только при повреждении или развитии патологического процесса, обладают мощным тромбогенным потенциалом. Во-вторых, эндотелий в зоне повреждения активируется и у него появляются прокоагулянтные свойства. Строение сосудов показано на рис. 2.

Сосудистая стенка у всех сосудов, кроме пре-капилляров, капилляров и посткапилляров, состоит из трех слоев: внутренней оболочки (интимы), средней оболочки (медии) и наружной оболочки (адвентиции).

**Интима.** На всем протяжении кровеносного русла в физиологических условиях кровь контактирует с эндотелием, образующим внутренний слой интимы. Эндотелий, который состоит из монослоя клеток эндотелиоцитов, играет наиболее активную роль в гемостазе. Свойства эндотелия несколько различаются на разных участках кровеносной системы, определяя разный гемостатический статус артерий, вен и капилляров. Под эндотелием находится аморфное межклеточное вещество с гладкими мышечными клетками, фибробластами и макрофагами. Также встречаются вкрапления липидов в виде капель, чаще расположенных внеклеточно. На границе интимы и медии находится внутренняя эластичная мембрана.



**Рис. 2. Сосудистая стенка** состоит из интимы, луминальная поверхность которой покрыта однослойным эндотелием, медию (гладкомышечные клетки) и адвентиции (соединительно-тканый каркас): А - крупная мышечно-эластичная артерия (схематическое изображение), Б - артериолы (гистологический препарат), В - коронарная артерия в поперечном разрезе

*Медия* состоит из гладких мышечных клеток и межклеточного вещества. Ее толщина значительно варьирует в различных сосудах, обуславливая их разную способность к сокращению, прочность и эластичность.

*Адвентиция* состоит из соединительной ткани, содержащей коллаген и эластин.

Артериолы (артериальные сосуды с общим диаметром менее 100 мкм) представляют собой переходные сосуды от артерий к капиллярам. Толщина стенок артериол немногим меньше ширины их просвета. Сосудистая стенка самых крупных артериол состоит из трех слоев. По мере ветвления артериол их стенки становятся тоньше, а просвет уже, однако сохраняется соотношение ширины просвета и толщины стенки. В самых мелких артериолах на поперечном срезе видны один-два слоя гладких мышечных клеток, эндо-телиоциты и тонкая, состоящая из коллагеновых волокон наружная оболочка.

Капилляры состоят из монослоя эндотелио-цитов, окруженных базальной пластиной. Кроме того, в капиллярах вокруг эндотелиоцитов находят другой тип клеток - перициты, роль которых изучена недостаточно.

Капилляры открываются на своем венозном конце в посткапиллярные венулы (диаметр 8-30 мкм), для которых характерно увеличение количества перицитов в сосудистой стенке. Посткапиллярные венулы, в свою очередь, впадают в собирательные венулы (диаметр 30-50 мкм), стенка которых, помимо перицитов, имеет наружную оболочку, состоящую из фибробластов и коллагеновых волокон. Собирательные венулы впадают в мышечные венулы, имеющие один-два слоя гладких мышечных волокон в средней оболочке. В целом венулы состоят из эндотелиальной выстилки, базальной мембраны, непосредственно прилегающей снаружи к эндотелиоцитам, перицитам, также окруженных базальной мембраной; снаружи от базальной мембраны имеется слой коллагена. Вены снабжены клапанами, которые ориентированы таким образом, чтобы пропускать кровь по направлению к сердцу. Больше всего клапанов в венах конечностей, а в венах грудной клетки и органов брюшной полости они отсутствуют.

#### **Функция сосудов в гемостазе:**

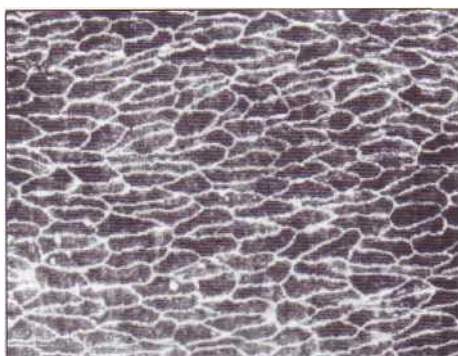
- Механическое ограничение кровотока.

- Регуляция кровотока по сосудам, в том числе спастическая реакция поврежденных сосудов.
- Регуляция гемостатических реакций путем синтеза и представления на поверхности эндотелия и в субэндотелиальном слое белков, пептидов и небелковых веществ, непосредственно участвующих в гемостазе.

- Представление на поверхности клеток рецепторов для энзиматических комплексов, вовлеченных в коагуляцию и фибринолиз.

Сосудистая стенка имеет активную поверхность, с внутренней стороны выстланную эндо-телиальными клетками. Целостность эндотелиального покрова является основой нормального функционирования кровеносных сосудов. Площадь поверхности эндотелиального покрова в сосудах взрослого человека сопоставима с площадью футбольного поля. Клеточная мембрана эндотелиоцитов обладает **высокой текучестью**, что является важным условием антитромбогенных свойств сосудистой стенки. Высокая текучесть обеспечивает гладкую внутреннюю поверхность эндотелия (рис. 3), который функционирует как целостный пласт и исключает контакт про-коагулянтов плазмы крови с субэндотелиальными структурами. Эндотелиоциты синтезируют, представляют на своей поверхности и выделяют в кровь и субэндотелиальное пространство целый спектр биологически активных веществ. Это белки, пептиды и небелковые вещества, регулирующие гемостаз.

**Рис. 3. Эндотелиальный покров сосудов.** Гладкая поверхность покрыта одним слоем эндотелиальных клеток. Целостность эндотелиального покрова - важнейшее условие сохранения жидкого состояния крови



**Антикоагулянтные свойства эндотелия обеспечиваются несколькими механизмами.**

- Интактный эндотелий не обладает прокоагулянтной активностью.
- Эндотелий пассивно предотвращает контакт крови с субэндотелиальными структурами, обладающими выраженными прокоагулянтными свойствами.
- Интактный эндотелий синтезирует, выделяет в кровь или представляет на своей поверхности вещества, препятствующие коагуляции, адгезии, агрегации и спазму сосудов.

### *Гликокаликс*

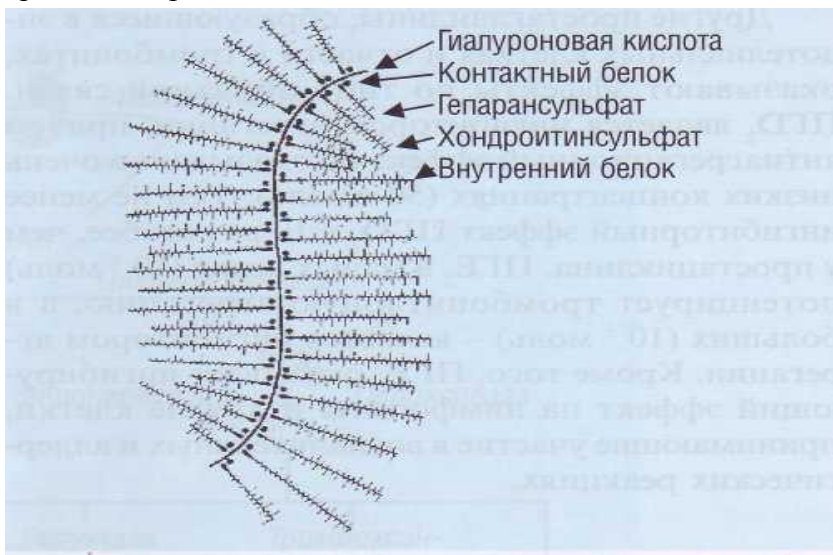
Со стороны просвета сосуда на поверхности эндотелиальных клеток сформирован **слой гликокаликса** (прежнее название - мукополисахарид), состоящий из протеогликанов, гликопротеидов, гликолипидов (рис. 4).

Основу гликокаликса образуют молекулы протеогликанов (рис. 5). Стержнем протеогликанов служит очень длинный филамент гиалу-роновой кислоты. К гиалуронату с помощью контактных белков крепятся внутренние (ядерные) белки. Основными элементами протеогликанов являются цепочки глюкозаминогликанов, в частности гепарансульфата и хондроитинсульфата, расположенные на внутреннем

(ядерном) белке. На одной молекуле ядерного белка длиной около 300 нм размещается до 200 молекул глюкозаминогликанов. На долю гепарансульфата в некоторых зонах эндотелиального покрова приходится до 80% глюкозаминогликанов.



**Рис. 4. Гликокаликс эндотелиального покрова** представляет собой молекулярный слой, состоящий из протеогликанов, гликопротеидов, гликолипидов, именно в нем осуществляются пристеночные метаболические процессы. Слой гли-кокаликса практически предупреждает прямой контакт клеток крови с поверхностью эндотелиальных клеток



**Рис. 5. Протеогликан** - основной элемент гликокаликса, сформированного на поверхности сосудистой стенки

Гепарансульфат обладает мощным антикоагулянтным действием, являясь кофактором антитромбина. Именно гепарансульфат служит основой гепарина, когда последний получают вытяжкой из биологических тканей. Комплекс гепарансульфат-антитромбин является самым активным ингибитором свертывания. На его долю приходится около 80% антикоагулянтной активности крови.

Крайними молекулами глюкозаминогликанов, как правило, являются **сиаловые кислоты**, которые формируют отрицательный поверхностный заряд. Клетки крови также имеют на поверхности сиаловые кислоты, поэтому между поверхностью сосудистой стенки и клетками крови формируются силы электростатического отталкивания.

Внутренние пространства протеогликанов гидратированы и формируют вязкий гель, устойчивый к компрессионному давлению. В результате образуется **пристеночный**

**молекулярный слой**, куда, с одной стороны, не проникают крупные клеточные элементы, с другой стороны, именно в этом слое функционируют такие ферменты, как липопротеинлипаза, целый ряд АДФаз, ферменты, разрушающие кинины, серотонин, норадреналин и другие биологически активные вещества, в том числе обладающие прокоагулянтной активностью.

### *Контроль активности тромбоцитов*

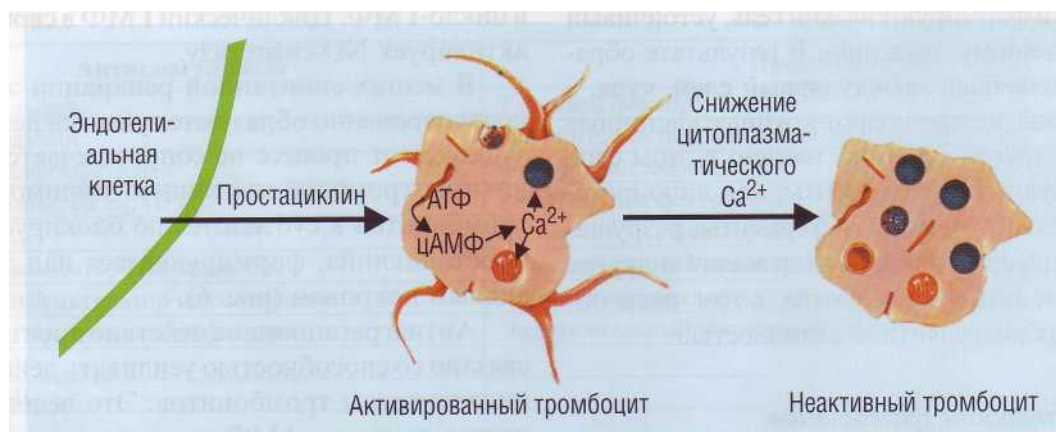
Способность интактного эндотелия контролировать активность тромбоцитов связана с постоянным синтезом простаглицина, экстрадено-зидифосфатазы и оксида азота (NO), которые препятствуют активации, адгезии и агрегации тромбоцитов.

**Оксид азота (NO)** - мощный антиагрегант и вазодилататор. NO образуется из аргинина под влиянием постоянно экспрессированной на эндотелии NO-синтетазы. Прежде чем NO был идентифицирован как вазоактивный метаболит, его эффект приписывали релаксирующему фактору эндотелия (EDRF - endothelium-derived relaxing factor). Брадикинин, гистамин, ацетилхолин повышают образование и освобождение NO из эндотелиальных клеток. Все эти вещества стимулируют гуанилатциклазу, которая переводит ГТФ в цикло-ГМФ.

Циклический ГМФ в свою очередь активирует NO-синтетазу.

В местах спонтанной репарации эндотелия кратковременно образуются участки деэндотелизации. Этот процесс не сопровождается пристеночным тромбообразованием. Видимо, адгезию тромбоцитов к субэндотелию блокирует облако простаглицина, формирующееся над эндотелиальным покровом (рис. 6).

Антиагрегационное действие простаглицина связано со способностью усиливать действие аденилатциклазы тромбоцитов. Это ведет к увеличению синтеза цАМФ, удалению ионов  $Ca^{2+}$  в пулы хранения из плазмы и снижению способности тромбоцитов к агрегации (рис. 7)



**Рис. 7. Эндотелий ингибирует активацию тромбоцитов за счет выработки простаглицина**

Другие простагландины, образующиеся в эндотелиальных клетках и отчасти в тромбоцитах, оказывают эффекты по типу обратной связи. ПГD<sub>2</sub> является ингибитором агрегации, причем антиагрегационный эффект он оказывает в очень низких концентрациях (50 нмоль). Тем не менее ингибиторный эффект ПГD<sub>2</sub> в 10 раз слабее, чем у простаглицина. ПГЕ, в малых дозах (10<sup>-8</sup> моль) потенцирует тромбоцитарную агрегацию, а в больших (10<sup>-5</sup> моль) - является ингибитором агрегации. Кроме того, ПГЕ, оказывает ингибирующий эффект на лимфоциты и другие клетки,



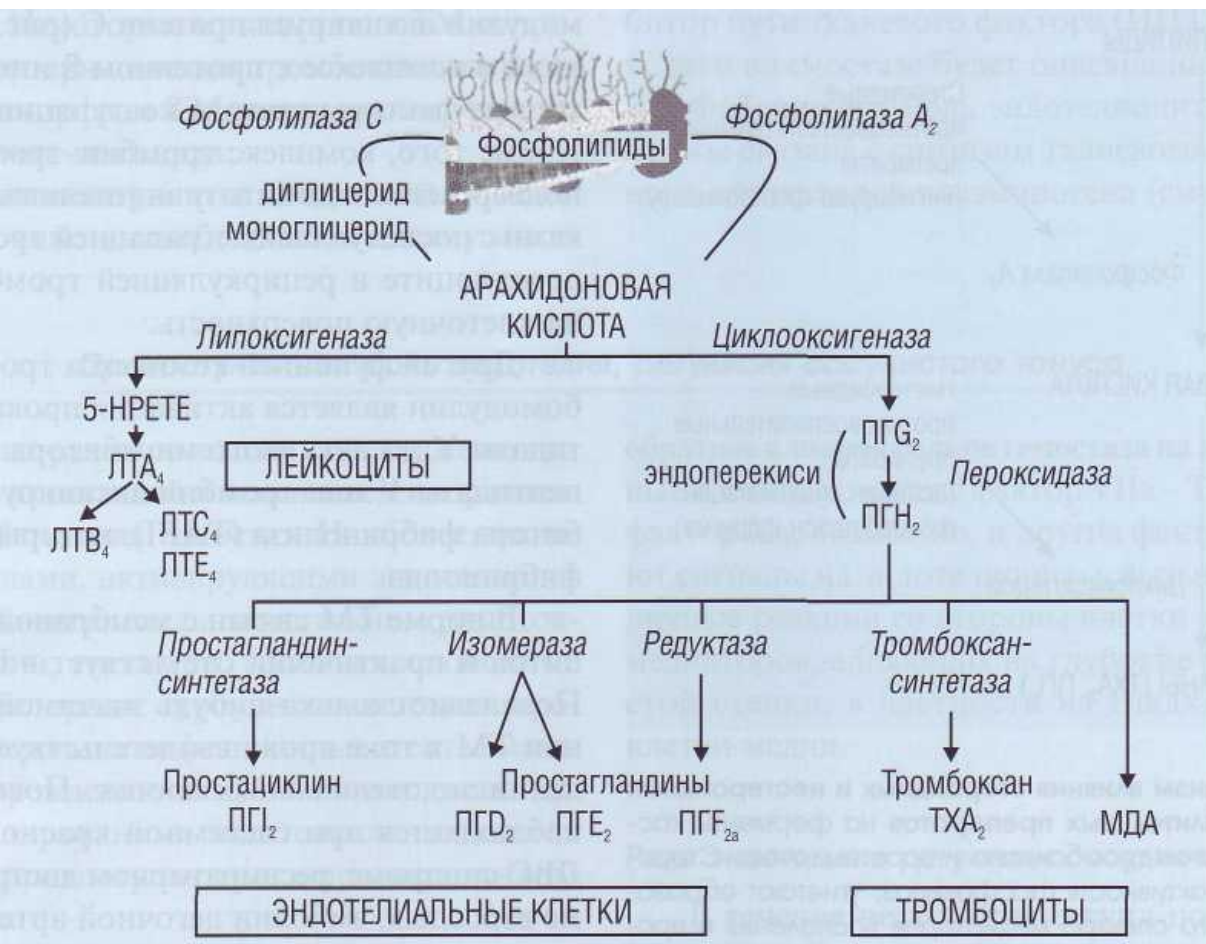
принимающие участие в воспалительных и аллергических реакциях.

### Молекулярный каскад образования простаглицлина и тромбосана

В эндотелиальных клетках, активированных тромбоцитах и других клетках из мембранных фосфолипидов под действием фосфолипаз освобождается арахидоновая кислота, которая в свою очередь является предшественником эйкозаноидов - кислородсодержащих производных. В эндотелиальных клетках из полиненасыщенной арахидоновой кислоты при участии специфического мультиферментного комплекса циклооксигеназы синтезируются простаглицлин и ряд активных простаглицлинов (рис. 8).

В тромбоцитах при активации фосфолипаз из образующейся арахидоновой кислоты синтезируется в основном тромбосан (ТХА<sub>2</sub>), он оказывает выраженный сосудосуживающий эффект и является мощным стимулятором адгезии тромбоцитов. Механизм действия ТХА связан с активацией фосфоинозитольного механизма и с прямым эффектом по увеличению проницаемости плазматической мембраны для ионов Ca<sup>2+</sup>. ТХА<sub>2</sub>, связывая Ca<sup>2+</sup> своими гидрофобными группами, обеспечивает перенос его через мембраны, тем самым оказывается выраженный прямой эффект на гладкомышечные клетки сосудов и бронхов. Его вазоконстрикторный эффект такой же, как у ангиотензина II, что делает ТХА<sub>2</sub> важнейшим местным регулятором распределения крови и стимулятором гемостаза.

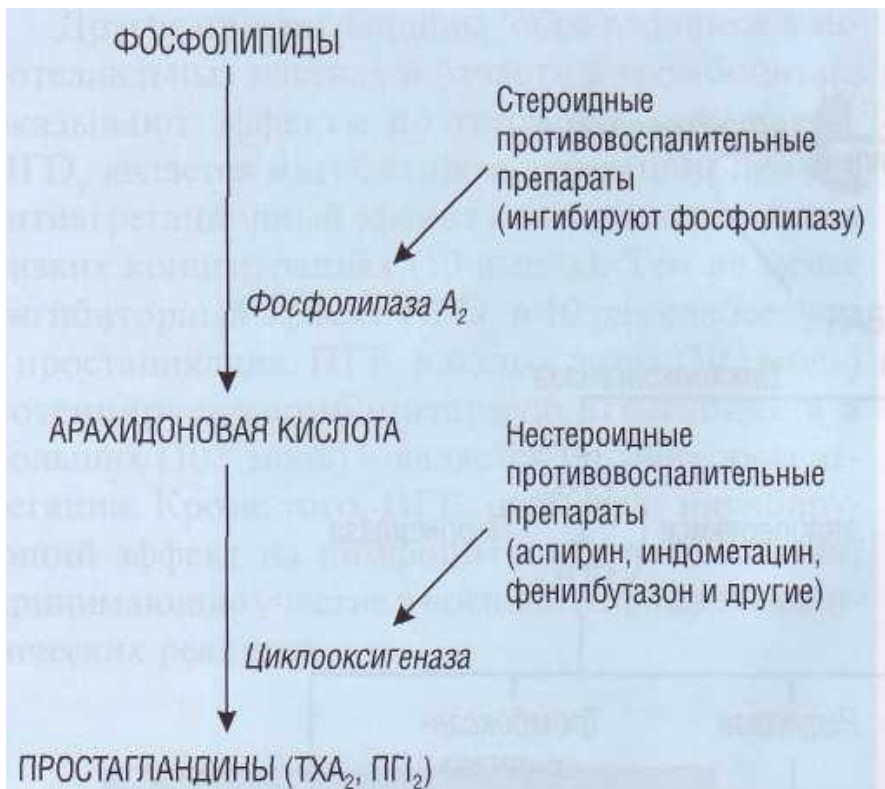
В лейкоцитах арахидоновая кислота является предшественником липоксигеназного пути образования лейкотриенов (ЛТА<sub>4</sub>, ЛТВ<sub>4</sub>, ЛТС<sub>4</sub>, ЛТД<sub>4</sub>, ЛТЕ<sub>4</sub>).



### **Рис. 8. Каскад метаболитов, образующихся из арахидоновой кислоты.**

Арахидоновая кислота освобождается из фосфолипидов клеточных мембран за счет ферментов фосфолипазы А<sub>2</sub> или фосфолипазы С. В эндотелиальных клетках и тромбоцитах с участием циклооксигеназы синтезируются эндоперекиси ПГ<sub>2</sub> и ПГ<sub>H2</sub>, в лейкоцитах под влиянием липок-сигеназы образуются лейкотриены, Из эндоперекисей в эндотелии образуется антиагрегант простаглицлин (ПГ<sub>2</sub>) и ряд других простаглицлинов, в тромбоцитах - проагрегант тромбоксан (ТХА<sub>2</sub>)

На молекулярный каскад образования про-стаглицлина и тромбксана влияет ряд лекарственных препаратов, часто применяемых в терапии (рис. 9). *Стероидные гормоны*, используемые как противовоспалительные средства, ингибируют фосфолипазы, при этом угнетается образование широкого спектра медиаторов из фосфолипидов клеточных мембран, в том числе медиаторов воспаления и продуктов каскада арахидоновой кислоты. Поэтому наряду с противовоспалительным стероидные гормоны оказывают ряд эффектов, в том числе и на систему гемостаза. *Ацетилсалициловая кислота* (аспирин) ацетилирует и ингибирует фермент циклооксигеназу в тромбоцитах и эндотелиальных клетках, что способствует ингибированию синтеза в них соответственно тромбксана (ТХА) и простаглицлина (ПГ<sub>2</sub>). Инактивация происходит очень быстро и практически необратимо. Тромбоциты не способны ресинтезировать циклооксигеназу (они получают ее из мегакариоцитов), тогда как метаболически активные эндотелиальные клетки вновь ресинтезируют циклооксигеназу и восстанавливают образование ПГ<sub>2</sub> Поэтому ацетилсалициловая кислота в низких дозах широко используется для лечения и как профилактическое средство артериальных тромбозов. Однако не следует применять ее в высоких дозах, так как при этом тормозится образование простаглицлина, что блокирует ее антитромботическое действие и может привести к тромбозу.



**Рис. 9. Механизм влияния стероидных и нестероидных противовоспалительных препаратов на ферменты каскада образования тромбосана и простагландина.** Стероиды, подавляя активность фосфолипаз, угнетают образование широкого спектра медиаторов воспаления и продуктов каскада арахидоновой кислоты, Ацетилсалициловая кислота и ее аналоги ингибируют циклооксигеназу: в малых дозах влияют в основном на тромбоциты и оказывают антиагрегантный эффект, а в высоких концентрациях подавляют образование простагландина в эндотелии и оказывают проагрегантное действие

### **Тромбомодулин**

Антикоагулянтная активность эндотелия связана также с наличием специфического мембранного белка - тромбомодулина. На поверхности интактного эндотелия содержится значительное количество ТМ. Тромбомодулин с высокой аффинностью связывает тромбин, меняя «направленность» его действия. Комплекс тромбин-тромбомодулин активирует протеин С (рис. 10). Последний в комплексе с протеином S ингибирует активные факторы каскада коагуляции Va и Villa. Кроме того, комплекс тромбин-тромбомодулин подвергается эндоцитозу эндотелиальными клетками с последующей деградацией тромбина в эндотелиоците и рециркуляцией тромбомодулина на клеточную поверхность.

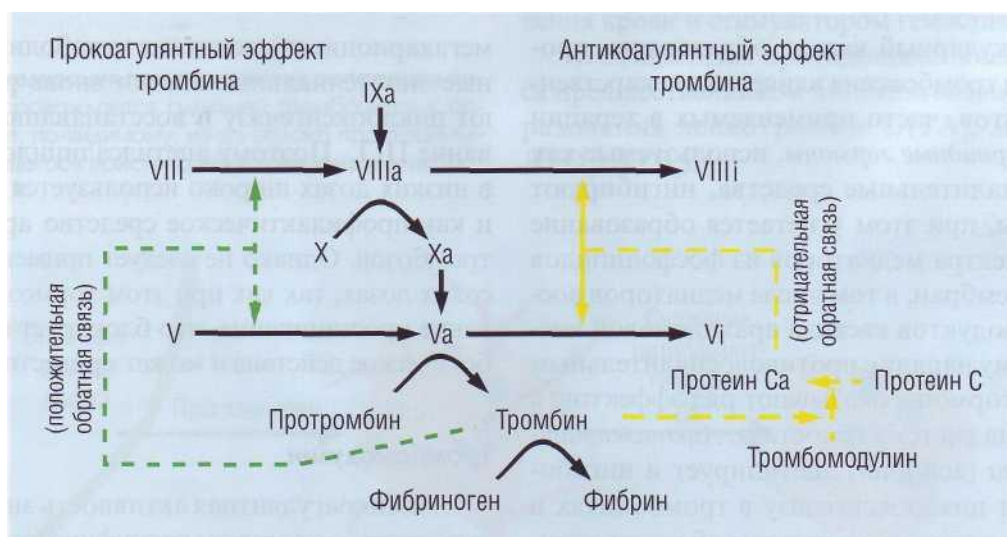
Другой функцией комплекса тромбин-тромбомодулин является активация прокальцитонина до активного ингибитора - карбокси-пептидазы Y или тромбин-активируемого ингибитора фибринолиза (ТАFI), который замедляет фибринолиз.

В норме ТМ связан с мембраной эндотелиоцитов и практически отсутствует в циркуляции. Появление сколько-нибудь значимой концентрации ТМ в токе крови свидетельствует о повреждении эндотелиальных клеток. Повышение ТМ наблюдается при системной красной волчанке, ДВС-синдроме, респираторном дистресс-синдроме взрослых, эмболии легочной артерии, инфаркте

миокарда, после использования тромболитиков при инфаркте миокарда, при диабетической микроангиопатии, после транслюминальной ангиопластики коронарных артерий. Значение ТМ для регуляции гемостаза имеет клиническое подтверждение. Некоторые мутации гена ТМ сопровождаются артериальными тромбозами, определенный полиморфизм ТМ имеет значение в развитии инфаркта миокарда.

**Другие антикоагулянты.** Эндотелий синтезирует и постоянно высвобождает в плазму ингибитор пути тканевого фактора (ИПТФ), роль которого в гемостазе будет описана ниже.

**Фибринолиз.** Роль эндотелиоцитов в фибринолизе связана с синтезом тканевого и урокиназного активаторов плазминогена (см. ниже).



**Рис. 10. Прокоагулянтный и антикоагулянтный эффекты тромбина.** Тромбин оказывает прямой активирующий эффект на факторы V и VIII и инактивирующее действие на факторы Va и VIIIa. Фактор VIII может быть активирован высокими концентрациями фактора IXa или следовыми концентрациями тромбина. В то же время тромбин в комплексе с тромбомодулином стимулирует антикоагулянтный эффект протеина С. Эти формы регуляции существенны для эффективного участия факторов Va и VIIIa в процессах свертывания крови

### *Прокоагулянтная роль эндотелия, регуляция сосудистого тонуса*

В ответ на различные стимулы эндотелиоциты отвечают активацией и изменением направленности воздействия на гемостаз. Наиболее значимыми стимулами, активирующими эндотелиоциты, являются воспалительные цитокины, эндотоксины, тромбин, гистамин, гипоксия, свободные радикалы кислорода, турбулентные потоки крови, внутриклеточные инфекционные агенты, механические повреждения, иммунные комплексы и др.

## У стимулированных эндотелиальных клеток появляются прокоагулянтные и провоспалительные свойства:

- Стимулированные эндотелиоциты могут представлять на своей поверхности тканевой фактор (ТФ). Этот процесс был исследован *in vitro* и частично подтвержден *in vivo* в сосудах некоторых злокачественных опухолей.
- На стимулированных эндотелиальных клетках снижается количество тромбомодулина.
- Они начинают секретировать ингибитор активатора плазминогена.
- Из пула хранения эндотелиоцитов (тельца Вейбла-Паллада) высвобождается фактор Виллебранда. Наиболее активными стимулами высвобождения фактора Виллебранда являются тромбин и гистамин.
- Происходит изменение фосфолипидного состава наружной поверхности мембраны эндотелиальных клеток с появлением рецепторов для ферментных комплексов коагуляционного каскада.
- В дополнение к ферментам классического коагуляционного каскада эндотелиальные клетки вырабатывают ряд дополнительных ферментов, в том числе гипоксия-индуцированный активатор фактора X, липополисахарид-индуцируемый активатор протромбина.

Помимо прямого влияния активированных эндотелиальных клеток на гемостаз, существует **обратное влияние белков гемостаза на эндотелиальные клетки**. Комплекс фактор VIIa - ТФ, тромбин, фактор Xa, возможно, и другие факторы передают сигналы на эндотелиоциты, вызывающие различные реакции со стороны клетки и выработку медиаторов, влияющих на глубокие слои сосудистой стенки, в частности на гладкомышечные клетки мидии.

### ***Роль эндотелия в регуляции сосудистого тонуса***

В течение нескольких секунд после повреждения сосудистой стенки происходит сокращение поврежденного и соседних кровеносных сосудов, свободные края сосуда вокруг повреждения вворачиваются внутрь кровеносного русла, при этом кровоток в месте повреждения частично прекращается. Ведущую роль в модуляции этих изменений выполняет **эндотелин**.

Эндотелин (ЕТ) - пептидный гормон, состоящий из 21 аминокислоты, относится к группе ци-токинов, имеет 3 изоформы (ЕТ-1, ЕТ-2 и ЕТ-3). Образуется эндотелин из предшественника пре-про-ЕТ (который иногда обозначается как большой эндотелин) при участии металлопептида-азы - эндотелинпревращающего фермента.

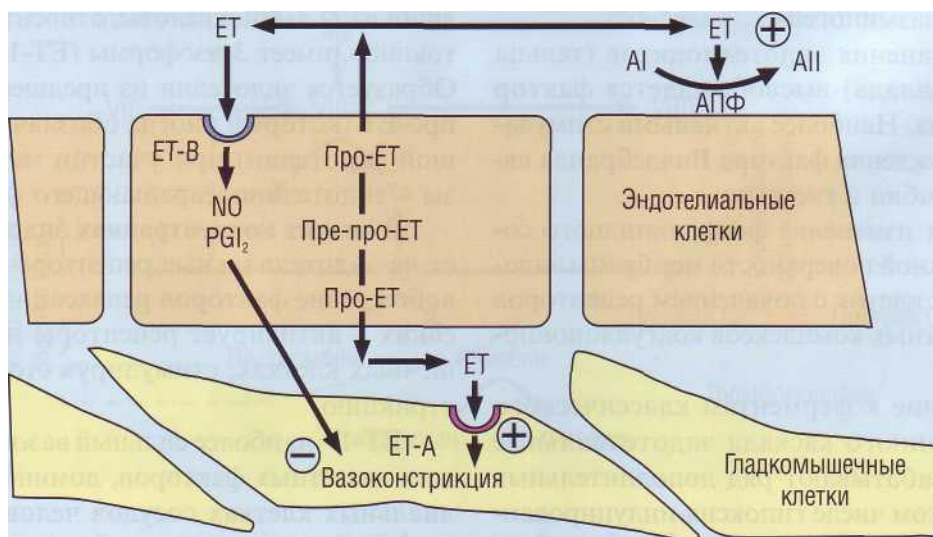
В **низких концентрациях** эндотелии действует на эндотелиальные рецепторы, вызывая высвобождение факторов релаксации, а в **более высоких** - активирует рецепторы на гладких мышечных клетках, стимулируя стойкую вазокон-стрикцию.

ЕТ-1 - наиболее сильный вазоконстриктор из всех известных факторов, доминирует в эндотелиальных клетках сосудов человека. Он также присутствует в небольших количествах в гладких мышечных клетках (ГМК) и кардиомиоцитах. ЕТ не хранится в клетках, а постоянно синтезируется *de novo*. Синтез ЕТ и освобождение его из эндотелиальных клеток стимулируют тромбин, адреналин, ангиотензин, вазопрессин, некоторые цитокины.

Большая часть ЕТ секретируется внутрь сосудистой стенки, где расположены специфичные высокоаффинные рецепторы. ЕТ, секретируемый наружу, взаимодействует с собственными рецепторами на клеточной мембране, а также стимулирует ангиотензинпревращающий фермент (АПФ), который переводит неактивный ангиотензин I в вазоконстриктор ангиотензин II (рис. 11).

Рецепторы для эндотелина сопряжены с G-бел-ками, присутствуют в 2 формах: ЕТ-А и ЕТ-В. Рецепторы ЕТ-А характеризуются высокой аффинностью и постоянно экспрессированы в миокарде на ГМК сосудов. Они обеспечивают прямое вазоконстрикторное действие эндотелина за счет активации поступления  $Ca^{2+}$  в клетку через неселективные ионные каналы. Рецепторы ЕТ-В экспрессированы на эндотелиальных клетках и ГМК в отдельных сосудистых бассейнах. Стимуляция ЕТ-В сопровождается освобождением NO (вазодилататор), тромбоксана (вазоконстриктор) и  $PGI_2$  (вазодилататор). Таким образом, один и тот же фактор реализует две противоположные сосудистые реакции (сокращение и расслабление), вызываемые различными химическими механизмами. Доказано, что дисбаланс эндотелин-зависимой сократимости и релаксации сосудов при артериальной гипертензии может способствовать повышению общего периферического сопротивления сосудов (ОПС) и появлению сердечно-сосудистых осложнений. Характерно увеличение эндотелина крови с возрастом. Наиболее высокий уровень эндотелина отмечен при атеросклерозе, неспецифическом аортоартериите, облитерирующем тромбангиите, т. е. при заболеваниях, протекающих с повреждением эндотелия. Поскольку эндотелин действует преимущественно местно, естественно предположить, что повышенное образование и поступление его в кровь может быть причиной возникновения и усугубления тяжести течения ИБС.

Мы исследовали чувствительность лабораторных тестов повреждения сердечно-сосудистой системы у пациентов с нестабильной стенокардией (n = 11, возраст  $60,7 \pm 9,9$  года) в состоянии компенсации. Все пациенты в течение, по крайней мере, 1 года находились на низкокалорийной диете и корригирующей терапии гиполипидемическими препаратами, в том числе статинами. В группу сравнения входили практически здоровые люди (n = 13), средний возраст которых был  $27,4 \pm 1,5$  года. Результаты измерений уровня эндотелина-1 и липидных показателей сыворотки представлены в табл. 2



**Рис. 11. Эндотелин - основной вазоконстриктор сосудистой стенки, вырабатывается и реализуется сосудистым эндотелием. ET - эндотелин, AI и AII - ангиотензин I и II, АПФ - ангиотензинпревращающий фермент, ET-A и ET-B - рецепторы к эндотелину**

У пациентов с нестабильной стенокардией после длительного срока наблюдения и интенсивной терапии (более 1 года приема статинов) удалось достичь целевых уровней основных показателей липидограммы для вторичной профилактики сердечно-сосудистых заболеваний, хотя эти показатели были выше, чем у здоровых молодых людей. В то же время уровень ET-1 у пациентов был выше не только показателей группы сравнения, но и рекомендуемого референтного значения. Это расценивается как свидетельство того, что, несмотря на интенсивную терапию, у больных сохраняется активный процесс дисфункции эндотелия. Поэтому пациенты с нестабильной стенокардией, даже при условии нормализации показателей липидного обмена, должны быть под наблюдением кардиолога. В свою очередь, определение ET-1 можно рекомендовать в качестве лабораторного теста активности процесса повреждения сосудистой стенки и, следовательно, прогноза течения болезни.

#### *Сравнительная характеристика эндотелина и липидов у пациентов с нестабильной*

Показатель	Пациенты с нестабильной стенокардией	Здоровые люди	Достоверность различий	Референтные значения
Общий холестерин (ммоль/л)	5,43 ± 0,89	3,98 ± 0,87	p < 0,05	3,5–5,2
ХС-ЛПНП (ммоль/л)	3,27 ± 0,57	2,47 ± 0,69	p < 0,05	1,0–3,5
ХС-ЛПВП (ммоль/л)	1,19 ± 0,25	1,08 ± 0,27	Недостоверно	1,0–1,9
Общие триглицериды (ммоль/л)	1,77 ± 0,65	0,82 ± 0,49	p < 0,05	0,5–2,0
Эндотелин-1 (пг/мл)	1,29 ± 0,59	0,58 ± 0,17	p < 0,01	0,3–0,9*

*стенокардией*

В состав субэндотелиальной базальной мембраны (рис. 12) входят различные типы коллагена, фибронектин, витронектин, ламинин, про-теогликаны, гликозаминогликаны, тромбо-спондин, фактор Виллебранда, а в местах повреждения и воспаления - фибрин. Большая часть этих компонентов синтезируется и секретируется эндотелиальными клетками, однако перициты и ГМК также вносят свой вклад в формирование внеклеточного матрикса. Внеклеточные белки

субэндотелия играют важную роль в межклеточном взаимодействии, формировании скелета сосуда, процессе клеточной адгезии, репарации и росте сосудов.

Субэндотелий является стимулятором адгезии тромбоцитов и активации каскадной системы свертывания крови. Прокоагулянтные свойства клеток субэндотелия (макрофагов, фибробластов, лейкоцитов и гладких мышечных клеток) обусловлены наличием на их поверхности тканевого фактора. Коллаген субэндотелия является субстратом для адгезии тромбоцитов. Связь коллагена с рецепторами тромбоцитов вызывает активацию последних. Помимо этого, коллаген, видимо, обладает свойством активировать белки системы контактной активации.

### ***Тканевой фактор***

Тканевой фактор (ТФ) - трансмембранный белок (рис. 13), локализованный на клетках субэндотелия (фибробластах, макрофагах, гладких 18 мышечных клетках). Предположительно ТФ есть на базальной мембране эндотелиоцитов, а на апикальной мембране он может появляться после активации клеток. ТФ в норме нет на поверхности циркулирующих лейкоцитов или эритроцитов.

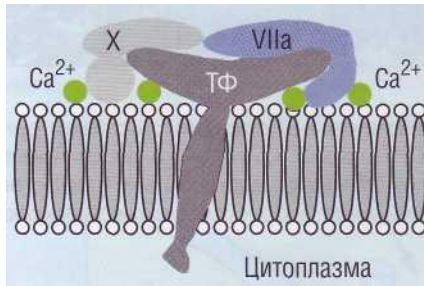
Роль ТФ в процессе свертывания крови очень велика. При связывании фактора VIIa с ТФ формируется активный комплекс, который в присутствии ионов  $Ca^{2+}$  активирует фактор X. По современным представлениям этот процесс является основным физиологическим путем запуска процесса свертывания крови. ТФ обладает очень большой тромбогенной активностью. При патологии он выявлен на некоторых опухолевых клетках. Это является одним из факторов риска развития тромбоза при онкологических заболеваниях.

Изначально ТФ классифицировали как один из плазменных факторов свертывания (тканевой тромбопластин, ф.Ш). Исследования показали, что ТФ фиксирован на клеточной мембране и в физиологических условиях не поступает в кровоток, поэтому он был исключен из классификации плазменных факторов гемостаза.

ТФ присутствует практически во всех тканях, кроме сухожилий. Атеросклеротические бляшки и моноциты после стимуляции липополисахаридами (например, клеточной мембраной бактерий) или ИЛ-1 могут генерировать ТФ. После повреждения или после стимуляции клеток ТФ может экспонироваться или вновь синтезироваться. Физиологическими стимуляторами синтеза ТФ являются такие цитокины, в том числе ИЛ-1, фактор некроза опухоли (ФНО), фрагмент комплемента C5a и др. Повышение экспрессии ТФ на моноцитах обнаружено при воспалении, сепсисе, опухолях, при сердечно-сосудистой патологии, особенно у больных, перенесших инфаркт миокарда, после экстравакулярной циркуляции крови. Имеются отдельные сообщения, что стероидные контрацептивы, принимаемые внутрь, курение вызывают повышение ТФ в системе циркуляции, что увеличивает риск тромбоза.

Определение экспрессии ТФ на моноцитах проводят методом проточной цитометрии. Есть предположения, что этот метод для оценки состояния гиперкоагуляции в будущем может заменить коагулометрические методы, проводимые на цельной крови.





**Рис. 13. Формирование активного комплекса внешнего пути активации свертывания на тканевом факторе, ТФ -тканевой фактор, VIIa - активный фактор VII свертывания крови (протеолитический фермент), X - неактивный фактор X свертывания крови (субстрат)**

### **Коллаген**

Коллагены - наиболее распространенные белки в организме животных. Они составляют 25% от общего количества белка. Коллагены образуют нерастворимые нити (фибриллы), которые входят в состав межклеточного матрикса и соединительных тканей.

Типичная молекула коллагена состоит из трех полипептидных цепей разных типов ( $\alpha$ -спиралей), скрученных в виде правой тройной спирали. В свою очередь полипептидные цепи построены из часто повторяющихся фрагментов, имеющих характерную последовательность -Gly-X-Y-. Каждым третьим аминокислотным остатком является *глицин*. *Пролин* (Pro) часто встречается в положениях X, положение Y может быть занято как *пролином*, так и *4-гидрокси-пролином* (4Hyp). Кроме того, молекула коллагена содержит остатки *3-гидроксипролина* (3Hyp) и *5-гидроксилизина* (5Hyl). Присутствие в полипептидной цепи остатков гидроксиаминокислот является характерной особенностью коллагена. Остатки пролина и лизина гидроксилируются посттрансляционно, т. е. после включения в полипептидную цепь. На одном из концов молекула коллагена сшита поперечными связями, образованными боковыми цепями остатков лизина. Количество поперечных связей возрастает по мере старения организма. Известно, по крайней мере, 12 вариантов коллагена, характеризующихся различным сочетанием полипептидных ос-цепей. Молекулы коллагенов обладают свойством спонтанно агрегировать с образованием более сложных структур, микрофибрилл и фибрилл. Большинство коллагенов образуют **фибриллы цилиндрической формы** (диаметром 20-500 нм) с характерными поперечными полосами, повторяющимися через каждые 64-67 нм.

В гемостазе коллагены выполняют несколько важных функций: • Они образуют эластичный «каркас» сосуда и во многом определяют его прочность, устойчивость к нагрузкам и реологические характеристики.

Типы III и VI коллагена обладают высокой прокоагулянтной активностью, связывая с высокой аффинностью фактор Виллебранда, и тем самым обеспечивают адгезию тромбоцитов.

Типы I и IV коллагена непосредственно взаимодействуют с тромбоцитарным рецептором GPIIb/IIIa, следствием чего также является адгезия тромбоцитов. Типы I, III, IV и V коллагена активируют тромбоциты, воздействуя непосредственно на тромбоцитарные рецепторы или опосредованно через фактор Виллебранда. Это влечет за собой изменение формы тромбоцитов, их адгезию и дегрануляцию.

## ДВС-синдром

Крайним проявлением активации системы гемостаза с включением всех его звеньев является развитие диссеминированного внутрисосудисто-го свертывания (ДВС). Комплекс в первую очередь клинических, а затем функциональных и лабораторных показателей, возникающих при ДВС, обозначают как ДВС-синдром. Диагноз ДВС-синдром ставится клиницистами. Лабораторные исследования предоставляют клиницисту объективные данные о состоянии системы гемостаза. В первом приближении можно сказать следующее: если система гемостаза и организм в целом способны скомпенсировать действие инициаторов свертывания, то имеет место гиперкоагуляция и ограниченное тромбообразование (рис. 1). Если развивается декомпенсация, то это состояние можно трактовать как ДВС-синдром.

Под ДВС понимают процесс усиленной внутрисосудистой коагуляции, при которой:

- в крови присутствует значительное количество тромбина, вызывающего системную
- активацию и последующее потребление «факторов-субстратов» (фибриногена, протромбина, факторов V и VIII и др.), антикоагулянтов и тромбоцитов;
- имеется частичная обструкция наиболее мелких сосудов с ишемическими нарушениями в органах; обнаруживается реактивный фибринолиз

ДВС-синдром возникает обычно в результате поступления в кровь или образования в ней веществ, инициирующих свертывание крови. Основопологающее событие в генезе острого ДВС-синдрома

чрезмерная активация свертывающей системы крови с образованием избытка тромбина, сопровождающаяся падением уровня тромбоцитов и факторов свертывания крови. К этому синдрому чаще всего могут приводить следующие состояния:

1. Повреждение тканей (массивный контакт крови с тканевым фактором):
  - Механическая травма (краш-синдром, проникающие повреждения, например повреждения мозга).
  - Термальные повреждения (ожоги, обморожения).
  - Асфиксия и гипоксия.
  - Оперативные вмешательства.  
Ишемия органов, инфаркты
  - Жировая эмболия.
  - Гиповолемический/геморрагический/анафилактический шок.
  - Гипертермия.
2. Онкология (контакт с онкологическими прокоагулянтами, тканевым фактором, фактором некроза опухоли, клеточными протеазами):
  - Солидные опухоли.
  - Лейкозы.
3. Инфекция (воздействие эндотоксинов, повреждение эндотелиальных клеток, активация тромбоцитов):
  - Бактериальные инфекции, вызванные менингококками, *E. coli*, *Salmonella*, *Pseudomonas*, *Haemophilus*, *Pneumococcus*,

*Hemolytic streptococci, Staphylococcus.*

- Вирусные инфекции, вызванные *Dengue, Lassa, Ebola, Marburg, Hantaan, Rubella, Herpes* и др.
  - Протозойные - малярия.
  - Другие - кандидозы, аспергиллезы, клостридиозы, туберкулез.
  - Токсический шок.
  - Грамотрицательный сепсис.
4. Патология сосудов и циркуляторные нарушения (поражение эндотелия, активация тромбоцитов):
- Гигантская гемангиома, сосудистые опухоли.
  - Аневризма аорты.
  - Хирургические вмешательства на сосудах, внутрисосудистые манипуляции.
  - Опухоли сердца.
  - Операции шунтирования сосудов сердца.
  - Острый инфаркт миокарда.
  - Васкулиты.
  - Эмболия легочной артерии.
5. Иммунологические нарушения (активация комплемента, экспозиция тканевого фактора):
- Анафилактические реакции.
  - Аллергические реакции.
  - Острые гемолитические посттрансфузионные реакции.
  - Гепарин-индуцированная тромбоцитопения.
  - Реакция отторжения трансплантата.
  - Болезнь Кавасаки.
6. Прямая активация ферментов:
- Панкреатит.
  - Укусы ядовитых змей.
7. Другие расстройства:
- Фульминантный некроз печени.
  - Синдром Рейе.
  - Цирроз печени.
  - Респираторный дистресс-синдром у взрослых.
  - Инфузия концентратов протромбинового комплекса.
  - Гемолитико-уремический синдром.
  - Воспалительные заболевания кишечника, перитонит.
  - Саркоидоз, амилоидоз.
  - Геморрагический шок.
  - Гомозиготный дефицит протеинов С и S.
8. Осложнения беременности:

- Преждевременная отслойка плаценты.
- Эмболия амниотическими водами.
- Эклампсия и преэклампсия.
- Индуцированные аборт.
- Внутриутробная гибель плода или незавершенный аборт.
- Сросшаяся плацента.
- Разрыв матки.
- Хроническая трубная беременность.
- Дегенеративная фибромиома.
- Внутриутробная гибель одного из однояйцевых близнецов.

#### 9. ДВС у новорожденных:

- Инфекции.
- Асфиксия в родах.
- Болезнь гиалиновых мембран.
- Аспирационный синдром, апноэ, ателектаз, пневмония.
- Легочное кровотечение.
- Переохлаждение.
- Глубокая недоношенность.
- Тромбозы крупных сосудов.
- Фульминантная пурпура.
- Некротизирующий энтероколит.
- Новообразования у плода и лейкозы.
- Повреждение головного мозга (некрозы и кровоизлияния).
- Фетальный эритробластоз.
- Поражение печени.
- Врожденное нарушение толерантности к фруктозе.

#### **Основные патогенетические механизмы запуска ДВС:**

Нарушение или повреждение эндотелия, сопровождающееся высвобождением прокоагулянтов и контактом крови с тканевым фактором.

- Активация моноцитов с экспрессией тканевого фактора и прокоагулянтов моноцитов. Именно чрезмерная активация и дегрануляция моноцитов-макрофагов, обладающих полноценным кровяным тромбопластином, часто рассматривается как центральное звено ДВС-синдрома при сепсисе.
- Контакт с тканевым фактором клеток злокачественных опухолей. ДВС особенно часто возникает при аденокарциноме поджелудочной и предстательной желез, продуцирующей муцин, при остром промиелоцитарном лейкозе, при котором гипергранулярные лейкозные клетки высвобождают из гранул материал, подобный тканевому фактору.
- Массивное поступление в кровь физиологических прокоагулянтов при различных повреждениях, массивных травмах, эмболии и др. Травмы головы с нарушением гематоэнцефалического барьера и контактом крови с тканью мозга - мощный источник тканевого

тромбопластина. Осложнения беременности, при которых материал, обладающий активностью тканевого фактора, попадает из полости матки в кровь матери (преждевременная отслойка плаценты, аборт, задержка мертворожденного плода или эмболия околоплодной жидкостью).

- Шок с выпадением функции органов и развитием полиорганной недостаточности.
- Введение факторов протромбинового комплекса, особенно активированных (переливание несовместимой крови).
- Массивное поступление в кровь бактериальных прокоагулянтов. В капсиде бактерий присутствует большое количество липополисахаридов (эндотоксин), способных резко активировать моноциты-макрофаги системы циркуляции.
- Прямая активация ферментами змеиных ядов.

Ведущую роль в запуске патологических процессов при ДВС, как правило, играет внешний путь активации протромбина. Активизация контактных факторов при ДВС-синдроме в первую очередь приводит к гипотонии и вазодилатации.

Еще одним звеном развития патологического свертывания крови и особенно синдрома потребления является повреждение тромбоцитов и эритроцитов. Кислые фосфолипиды, в норме находящиеся на внутренней поверхности клеточной мембраны, являются важным фактором активации процессов свертывания крови. Их появление в циркулирующей крови в большом количестве приводит к значительному усилению процесса свертывания крови и потреблению прокоагулянтов. Возможно, что активация системы комплемента также усиливает процесс потребления, но более вероятно, что это лишь два параллельных процесса.

Имеются данные, что у пациентов с коагулопатией потребления снижена функция тканевых макрофагов и содержание фибронектина. Это приводит к снижению активности удаления макрофагами ретикулоэндотелиальной системы микроагрегатов фибрина, обломков коллагена и, возможно, бактерий и продуктов их жизнедеятельности

### ***Виды ДВС-синдрома***

Лабораторные показатели, характеризующие состояние гиперкоагуляции и внутрисосудистого свертывания, меняются в зависимости от течения и стадии процесса. По течению ДВС-синдром подразделяют на

**Острый**, включая молниеносную (катастрофическую) форму. Острый ДВС-синдром проявляется

комплексом аномалий, включаю

щим нарушение микроциркуляции, повреждение сосудистой стенки, тромбоцитопению и тромбоцитопатию, анизоцитоз и гемолиз

эритроцитов, нейтрофильную реакцию, гиперкоагуляцию и геморрагический синдром на фоне коагулопатии и тромбоцитопатии

потребления, нарушения в системах фибринолиза, антикоагулянтов, калликреин-кининовой и других протеолитических систем.

Фазы острого ДВС-синдрома:

- 1) гиперкоагуляция и гиперагрегация;
- 2) коагулопатия и тромбоцитопатия потребления с активацией фибринолитической системы;
- 3) генерализация фибринолиза;
- 4) восстановление.

- **Подострый** с длительным периодом гиперкоагуляции и/или гиперагрегации тромбоцитов. Подострый ДВС-синдром, характеризующийся вялотекущим, скорее хроническим течением, лабораторно проявляется тромбоцитопенией, нормальным или несколько удлиненным ПВ, укорочением АЧТВ, нормальным или несколько сниженным фибриногеном и повышением уровня в плазме продуктов деградации фибрина (ПДФ). Следует отметить, что фибриноген, как острофазный белок, при инфекционных и травматических формах ДВС может быть повышенным. Это состояние может приводить к тромбоэмболическим осложнениям, в том числе к тромбозам вен, артериальной тромбоэмболии. Кровоточивость встречается нечасто.
- **Хронический**. Для хронической формы ДВС-синдрома характерно постоянное, но менее сильное активирующее воздействие на систему гемостаза. Это обуславливает малую скорость генерации тромбина, однако достаточную для развития микроциркуляторных нарушений. Хроническая форма ДВС-синдрома наблюдается при хронических заболеваниях легких, почек, атеросклерозе, сахарном диабете, артериальной гипертензии и других заболеваниях.

### **Тромбоцитарно-сосудистый гемостаз при ДВС-синдроме**

Ведущим механизмом патологических изменений при ДВС являются нарушения в системе микроциркуляции. Выпадение фибрина в мелких сосудах сопровождается замедлением кровотока, сборкой эритроцитов в монетные столбики, травматизацией с изменением формы эритроцитов, увеличением анизоцитоза и появлением клеточного дегриса (рис. 146).

Количественной характеристикой анизоцитоза эритроцитов является увеличение показателя RDW, определяемого гематологическими анализаторами и рассчитываемого как коэффициент вариации объема клеток. Травматизация эритроцитов сопровождается внутрисосудистым гемолизом. Симптомкомплекс внутрисосудистого гемолиза: повышение свободного НЬ, неконъюгированного билирубина и ретикулоцитоз. ДВС с внутри-сосудистым гемолизом характеризуется более тяжелым течением, чем без гемолиза, так как гемолиз усиливает свертывание из-за освобождения АДФ из эритроцитов, который дополнительно активирует тромбоциты. Кроме того, поврежденные эритроциты являются источником эритрофосфатидов.

Тромбоциты при ДВС всегда вовлечены в развитие патологических реакций. При ряде форм ДВС тромбоциты являются основным субстратом действия патологического фактора: при эндотоксинах формах поражения, сепсисе, вызванном грамотрицательными бактериями, ДВС развивается через активацию тромбоцитарно-сосудистого гемостаза (рис. 147); системные васкулиты перерастают в ДВС через тромбоцитарные нарушения. **Тромбоцитопения** (<150 тыс./мкл) возникает в результате потребления тромбоцитов. **Тромбоцитопатия** развивается в результате реактивного выброса в кровоток незрелых тромбоцитов и потребления наиболее полноценного пула тромбоцитов.

Основным лабораторным показателем нарушения тромбоцитарно-сосудистого гемостаза при ДВС-синдроме является острое снижение в крови тромбоцитов при одновременном повышении спонтанной агрегации. Однако при значительной тромбоцитопатии агрегация, как спонтанная, так и индуцированная, будет сниженной.

### Плазменный гемостаз при ДВС-синдроме

Комплекс лабораторных показателей, характеризующих состояние активации плазменного гемостаза при ДВС-синдроме, представлен в табл. 65.

Помимо данных, указанных в табл. 62, в ряде случаев ДВС определяется сниженная активность протеина С.

Активация системы гемостаза, которая приводит к тромбозу, сопровождается появлением в крови специфических маркеров. Гиперкоагуляция в плазменном звене проявляется в первую очередь избыточной активацией тромбина, что определяется несколькими лабораторными тестами (рис. 148). Однако все эти тесты могут проявляться не только в стадии гиперкоагуляции при ДВС-синдроме, но и при тромбообразовании, при массивной тромболитической терапии. Например, при нестабильной стенокардии и остром инфаркте миокарда несколько маркеров активации гемостаза, как правило, дают положительную информацию. Это тесты на фибринопептид А (ФПА), комплекс тромбин-антитромбин (ТАТ), продукты паракоагуляции, D-димеры. При врожденной тромбофилии из-за дефицита протеина С или S примерно у  $1/4$  пациентов выявляют увеличение ТАТ или других маркеров активации гемостаза даже без каких-либо признаков острых тромбозов. В то же время часто при наличии тромбов не определяются маркеры тромбообразования. Поэтому лабораторные тесты, даже в совокупности, играют вспомогательную роль в постановке диагноза ДВС-синдром.

### Диагностика ДВС-синдрома

*Диагностика острого ДВС-синдрома* начинается с оценки клинической ситуации. При подозрении на возможность развития острого ДВС рекомендуется срочно исследовать число тромбоцитов и содержание фибриногена, что позволит избежать ошибочных выводов, так как часто при патологических состояниях, приводящих к развитию острого ДВС, уровень тромбоцитов и фибриногена может быть повышен. В этих случаях снижение числа тромбоцитов и уровня фибриногена до нормальных величин является серьезным основанием для подозрения на начало ДВС. В этом случае рационально, кроме числа тромбоцитов и концентрации фибриногена, провести общие скрининговые тесты - ПВ, АЧТВ и ТВ, а также исследовать активность естественных антикоагулянтов, прежде всего антитромбина. Однако при трактовке общих скрининговых тестов следует помнить, что на показатели ПВ и АЧТВ в значительной степени влияет тромбин. Последний в избытке имеется в плазме больных с острым ДВС и может стать причиной нормальных результатов даже на фоне значительного снижения прокоагулянтов. Поэтому для подтверждения диагноза ДВС рекомендуется провести специальные тесты на повышенное образование тромбина и плазмина.

*Диагностика хронического ДВС-синдрома* требует тщательной оценки клинических и лабораторных данных. Для хронического ДВС-синдрома характерно повышение маркеров тромбоинемии, в том числе D-димеров.

Основные тесты, указывающие на активацию свертывающей системы, - это тесты, выявляемые иммунохимическими методами. Моноклональные антитела, используемые в этих тестах, позволяют идентифицировать состояние факторов как «активное» или «неактивное» или как «заблокированное ингибиторами», что бывает очень важным с точки зрения диагностики. Методы ELISA, иммунофлуоресценции или турбидиметрии и нефелометрии существенно расширяют возможности клиничко-диагностической лаборатории в комплексной оценке и выявлении механизмов активации системы гемостаза. Ручные методы латекс-агглютинации также достаточно широко используются в диагностике механизмов нарушения гемостаза, но они постепенно заменяются автоматизированными методами иммунохимии. Все более активно в клинику внедряются экспресс-тесты прикроватной диагностики (D-димеры, фибринопептиды, ТАТ), основанные на принципе

иммуно диффузии.

Определение D-димеров имеет высокую диагностическую чувствительность, но относительно низкую специфичность для ДВС-синдрома (табл. 66). Высокая чувствительность - показатель наибольшей надежности; использование этого теста гарантирует выявление ДВС. Низкая специфичность обусловлена ложноположительными результатами, объясняется это тем, что данный тест фактически выявляет продукты деградации поперечно-сшитого фибрина, который составляет основу любых тромбов и не зависит от причины их образования. Поэтому этот тест выявляет лизис нерастворимого фибрина, а реактивный фибринолиз - практически обязательный элемент ДВС

**Продукты гиперактивации плазменного гемостаза, которые не обнаруживаются в норме, но характерны для ДВС-синдрома: ПДФ - продукты деградации фибриногена/фибрина, ТАТ - тромбин-антитромбиновый комплекс, ПАП - комплекс плазмин-антиплазмин, ФПА - фибринопептид А, РФМК - растворимые фибрин-мономерные комплексы, F1 + 2 - фрагменты протромбина, PF4 - фактор 4 тромбоцитов, P-TG - (3-тромбоглобулин)**

#### **Мониторинг терапии непрямыми антикоагулянтами**

Для мониторинга терапии непрямыми антикоагулянтами используют определение протромбинового времени (ПВ), результат которого выражается в виде МНО - международного нормализованного отношения (см. раздел «Про-тромбиновое время»). ПВ следует определять ежедневно (в крайнем случае, через день) до тех пор, пока не будет подобрана индивидуальная поддерживающая доза и не станут стабильными показатели теста. Затем ПВ оценивают 1 раз в неделю в течение первого месяца лечения, в дальнейшем 1-2 раза в месяц и реже.

Во время подбора дозы антикоагулянта непрямого действия следует периодически определять АЧТВ: оптимальными считаются значения в 1,5-2 раза превышающие верхнюю границу референтной величины. Меньшие результаты свидетельствуют о недостаточном уровне гипокоагуляции, что может наблюдаться при гиперактивации факторов внутреннего пути, чаще фактора VIII. В этом случае следует несколько увеличить дозу препарата или временно усилить лечение назначением гепарина. Увеличение АЧТВ более чем в 2 раза резко усиливает риск кровотечения, что требует снижения дозы препарата или прекращения терапии непрямыми антикоагулянтами.

При необходимости быстрого достижения антикоагулянтного эффекта одновременно назначают гепарин и несколько большую дозу непрямого антикоагулянта. В этом случае необходим мониторинг гепаринотерапии по АЧТВ и ежедневный мониторинг терапии антикоагулянтам непрямого действия по МНО. По достижении необходимого терапевтического уровня значений ПВ переходят на поддерживающую дозу препарата, а гепарин отменяют только тогда, когда поддерживающая доза непрямого антикоагулянта не менее 2 дней подряд обеспечивает необходимый уровень гипокоагуляции.

#### **Осложнения терапии непрямыми антикоагулянтами**

Наиболее тяжелым осложнением является усиление тромбоза или возникновение тромбоза подкожных сосудов с развитием некроза тканей - «кумудинового некроза». Возникают эти осложнения у лиц с низкой активностью протеинов S и C. Поскольку эти белки являются витамин-К-зависимыми, их активность быстро снижается после начала приема непрямого антикоагулянта, тогда как их субстрат - факторы V и VIII - не меняет своей активности. Нарушение соотношения фактор-ингибитор может приводить к усилению тромбозов и развитию «кумудинового некроза».



Лечение «кумудинового некроза» заключается в назначении прямых антикоагулянтов и свежезамороженной плазмы как источника протеинов С и S.

Другая группа осложнений - геморрагические проявления при передозировке антикоагулянтов. При этом возможны выраженные кожные геморрагические проявления, преимущественно по гематомному типу, носовые кровотечения, кровотечения из мест инъекций, гематомы мягких тканей, желудочно-кишечные, почечные кровотечения и даже внутричерепные кровоизлияния.

Лечение геморрагических проявлений заключается в снижении дозы или временной отмене непрямых антикоагулянтов, применении свежезамороженной плазмы, криопреципитата

### *Лабораторные показатели, характеризующие состояние гиперкоагуляции и фазы ДВС-синдрома*

Удл - удлинение теста, Удл/∞ - удлинение / тест не определяется в течение времени измерения.

	Количество тромбоцитов	ПВ	АЧТВ	Фибриноген	АТ	ТАТ	РФМК	ПДФ/Д-димеры	Факторы плазмы
Фаза гиперкоагуляции	Н	Н	Н	Н/↑	↓	↑	Н/↑	Н/↑	Н
Фаза потребления	↓/↓↓	Удл	Удл	↓/↓↓	↓/↓↓	↑↑	↑	↑↑	↓↓
Фаза генерализации	↓↓↓	Удл/∞	Удл/∞	↓↓↓	↓↓↓	↑↑↑	↑↑↑	↑↑↑	↓↓↓

**Гиперфибринолиз** сопровождается образованием избыточного количества продуктов деградации фибрина (ПДФ), которые способны вступать во взаимодействие с фибрин-мономерами, нарушая полимеризацию фибрина. При этом образуются растворимые комплексы мономеров фибрина (РКМФ) и проявляется гипокоагулянтный эффект ПДФ

### **Клинический пример 1**

Больная 59 лет. Острый промиелоцитарный лейкоз. ДВС (?).

В области верхних, нижних конечностей гематомы.

*Коагулологическое обследование:* НБ 118 г/л, тромбоциты - единичные, АЧТВ 65 с (норма 35-45 с), ПИ 49%, ТВ >60 с, фибриноген 0,7 г/л, лизис эуглобулиновой фракции 75 мин (норма 140-240 мин), ПДФ (латекс-тест) 10-40 мг/мл (норма - отр.), агрегация тромбоцитов с АДФ отсутствует.

*Заключение:* на фоне резкой гипофибриногемии отмечается значительное замедление протромбиназообразования по внешнему и внутреннему путям. Активация фибринолиза. Агрегация на фоне выраженной тромбоцитопении отсутствует

*Коагулограмма для решения вопроса об адекватности антиагрегационной терапии*

Тест	Больной	Референтное значение
АЧТВ (с)	42	35–45
ПТ (%)	94	80–100
Фибриноген (г/л)	3,7	2–4
ТВ (с)	27	28–30
Лизис эуглобулиновой фракции (мин)	170	140–240
АТШ (%)	80	75–125
Агрегация с 2,5 мкмоль/л АДФ (%)	92	50–70
Заключение	Усиление агрегационной активности тромбоцитов. Недостаточная эффективность принимаемого аспирина. Рекомендуется принимать антиагреганты другого ряда	

### **Скрининговый тест на основе АЧТВ для оценки антикоагулянтной активности протеина С**

Антикоагулянтная активность протеина С, связанная с ингибированием активных факторов *VIIIa* и *Va*, рассматривается в последнее время как один из основных физиологических барьеров против тромбоза. Поэтому определение резистентности к активированному протеину С (РАПС) - один из самых первых подходов при выявлении индивидуального риска тромбоза. Наиболее реальным скрининговым тестом для определения РАПС является постановка АЧТВ в условиях предварительной активации протеина С активатором из змеиного яда с фирменным названием Protac® (см. ниже). Чувствительность теста к фактору Лейден и дефициту протеина С близка к 100%. Тест с Protac® может нарушаться также при наличии волчаночного антикоагулянта, мутации протромбина 20210G—>A или повышенной активности ф.УШ:С (> 150%).

### **Патогенез тромбофилии**

Как правило, тромбофилия - комбинированное состояние, возникающее вследствие действия нескольких патогенетических факторов. Основные патогенетические факторы тромбофилии:

- Повреждение эндотелиальных клеток с обнажением тромбогенных субэндотелиальных структур.

Активация тромбоцитов циркулирующими агонистами либо вследствие взаимодействия тромбоцитов с субэндотелиальными структурами или фактором Виллебранда.

- Активация свертывания крови.
- Резистентность к антикоагулянтам или дефицит антикоагулянтов.
- Снижение активности фибринолиза.
- Реологические нарушения и стаз.

Эти факторы возникают на фоне целого ряда патологических состояний.

*Наследственные факторы риска патологического тромбообразования* (генетические дефекты выявляются у 30-50% пациентов с тромботическим состоянием):

- Мутация фактора V (фактор V Лейден).
- Дефицит антитромбина III.
- Дефицит протеина С.
- Дефицит протеина S.

- Мутации протромбина, в первую очередь G20210A.
- Полиморфизм тромбоцитарного рецептора GP1a.
- Дисфибриногенемии.
- Гиперлипопротеинемия (а).
- Мутация ингибитора пути тканевого фактора (ИВП), 536С/Т.
- Гипергомоцистеинемия (у детей, как правило, носит наследственный характер).
- Дефекты тромбомодулина.
- Мутации гена GP1a тромбоцитов.
- PAI-1.

*Приобретенные факторы патологического тромбообразования:*

- Возраст.
- Пороки сердца и сосудов.
- Атеросклероз.
- Катетеризация вен, особенно длительное нахождение катетера в вене.
- Повышение вязкости крови (полицитемия, потеря жидкости).
- Операция или травма.
- Длительная иммобилизация.
- Инфекция (ВИЧ, ветряная оспа, гнойный тромбофлебит).
- Аутоиммунные заболевания (волчаночный антикоагулянт, антифосфолипидный синдром, сахарный диабет, болезнь Бехчета и др.).
- Нефротический синдром.
- Ингибиторы к протеинам S и C.
- Онкологические заболевания.
- Химиотерапия (L-аспарагиназа, преднизолон).
- Заболевания печени.
- Талассемия (постспленэктомический тромбоз печеночных вен).
- Серповидно-клеточная анемия.
- Прием гормональных противозачаточных препаратов.

Факторы, роль которых в развитии тромбозов неясна:

- Высокий уровень активности факторов VIII, XI, XII, Виллебранда, ингибитора активатора плазминогена.
- Дефицит факторов XII, кофактора гепарина II, плазминогена, активаторов плазмино

гена, тромбомодулина.

### ***Лабораторные тесты при тромбофилии***

Лабораторные тесты при диагностике тромбофилии можно сгруппировать в 2 группы:

1. *Маркеры активации.* Повышение концентрации этих маркеров является признаком высокой активности образования фибрина, но не предоставляет информации о причинах гиперкоагуляции. Эти тесты дают возможность решить вопрос о назначении антикоагулянтов.

2. *Тесты на выявление причин тромбофилии.*

Эти тесты проводятся для выяснения причин тромбофилии. Они не дают представления о риске развития тромбоза в момент исследования. Часто эти тесты проводятся после постановки тестов 1-й группы и купирования тромбоза. К сожалению, далеко не во всех случаях удастся установить причину тромбофилии.

Маркеры активации - индикаторы тромбоза, их повышение в сыворотке свидетельствует, что происходит активация тромбина. Казалось бы, что резонно измерять сам тромбин в сыворотке, однако после образования тромбин в течение 15 с инактивируется, главным образом за счет образования комплекса тромбин-антитромбин (ТАТ).

#### **Время появления маркеров активации коагуляции неоднозначно:**

- *Ранними маркерами* активации тромбина являются F1+2 и ТАТ.
- *Непосредственно в момент образования сгустка* определяют фибрин-мономеры (ФМ) и ФПА.
- *Поздними маркерами*, возникающими после образования фибрина, являются D-димеры, которые представляют собой одновременно маркеры фибринообразования и фибринолитической активности.

Маркеры активации имеют разный период полувыведения ( $t_{1/2}$ ) из системы циркуляции:

- ФПА - 3-5 минут (быстро выводятся через почки);
- ТАТ- 15 минут;
- F1+2-90 минут;
- D-димеры - несколько часов;
- ФМ - несколько часов (комплексы фибрин-мономеров перераспределяются в организме в зависимости от их количества).

Клиническое значение определения этих маркеров различно

### **Маркеры тромбофилии**

#### ***Мутация фактора V (ФМ Лейден, Leiden)***

Мутация фактора свертывания крови V была описана в 1993 году в семьях с патологической устойчивостью к действию протеина С. При изучении этого феномена выяснилось, что примерно в 95% случаев патология была вызвана точечной заменой аргинина на глутамин в позиции 506 гена ф. V. ф. V Лейден - наиболее распространенный в европейской популяции протромботический дефект. Частота гетерозиготного наследования у европейцев

колеблется от 2 до 16%. Гомозиготы по этой мутации встречаются гораздо реже, примерно в 0,1%. В африканской, американской, австралийской (аборигены) и азиатской популяции эта мутация практически отсутствует. По расчетам гетерозиготное носительство гена ф.У Лейден увеличивает риск развития тромбоза в 5-10 раз, а гомозиготы по этой мутации имеют риск развития тромбоза в 80 раз больше, чем лица, не страдающие тромбофилией. Тромботические проявления у лиц с ф.У Лейден, как правило, впервые возникают в пубертатном возрасте с расчетной частотой 0,28%. Тромбозы, ассоциированные с ф.У Лейден, в первую очередь затрагивают венозную систему. Наиболее характерная локализация тромбозов, ассоциированных с этой мутацией - поверхностные и глубокие вены конечностей, тромбозы церебральных вен. Риск тромбозов повышается при приеме оральных контрацептивов, при развитии антифосфолипидного синдрома (наличие аутоантител к фосфолипидам или белкам, связанным с фосфолипидами, таким, как протеины С и S, протромбин,  $\alpha_2$ -гликопротеин I и др.), при дефиците одного из ингибиторных белков, таких, как протеин С, протеин S или антитромбин. Фактор V Лейден часто обнаруживается у женщин с хроническим невынашиванием беременности. Спонтанные аборт у них возникают на поздних сроках и связаны с характерным для этих сроков повышением С4-СП и функциональным гипофибринолизом, что в сочетании с РАПС приводит к тромбозу сосудов плаценты. Риск тромбоза легочных артерий у лиц с ф.У Лейден, по сравнению с общей популяцией, повышается незначительно. У детей и лиц молодого возраста тромбозы возникают при присоединении дополнительных факторов риска (инфекционных заболеваний, болезни Пертеса, Бехчета, при ДЦП, порэнцефалии и др.), не связанных с возрастом.

Лабораторная диагностика: определение повышения резистентности к протеину С, молекулярный анализ гена ф.У. Мутация Лейден адекватно выявляется методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

## **Клинический пример 2**

Больной 15 лет. Заболел остро, появились боли в поясничной области, дизурические проявления. Предъявлял жалобы на частые головные боли и подъем артериального давления.

*Клиническое обследование:* проведена аорто-графия, селективная ангиография культи правой почечной артерии (правая почка значительно уменьшена в размерах). Правая почечная артерия окклюзирована в средней трети, уменьшена в диаметре. На экскреторной урографии - отсутствие функции правой почки. На ангиосцинтиграфии почек выявлен двусторонний нефроптоз. При эхокардиоскопии выявлено пролабирование митрального клапана II степени и аневризматическое выпячивание в области овального окна.

При исследовании общего анализа крови выявлена умеренная полиглобулия (гемоглобин - 159 г/л), в анализе мочи - протеинурия. При исследовании системы гемостаза найдено снижение резистентности фактора Va к активированному

протеину С (НО = 0,52, контроль  $1,10 \pm 0,02$ ). Спонтанная агрегация тромбоцитов - 22% (контроль до 20%), АДФ-агрегация - 86% (контроль 60-71%), адреналин-агрегация - 94% (контроль 69-75%), коллаген-агрегация - 76% (контроль 60-70%). Волчаночный антикоагулянт не обнаружен. Другие показатели гемостаза нарушены не были.

*Таким образом, у больного выявлено:* пост-тромботическая окклюзия правой почечной артерии. Вторично сморщенная почка. Вазоре-нальная гипертензия, гематогенная тромбофилия

сложного генеза: резистентность фактора Va к протеину С, тяжелая форма, гиперагрегационный синдром, вторичная ренальная полиглобулия. Учитывая молодой возраст пациента, можно предположить врожденный характер тромбофилии.

Выявленные изменения позволили составить план профилактики рецидивов тромбозов в течение жизни. В связи с резистентностью к протеину С назначение непрямых антикоагулянтов не проводилось.

### ***Дефицит протеина С***

Несмотря на то что первые описания дефицита ПС появились с начала 80-х годов XX века, до сих пор в литературе имеются противоречивые сведения о характере наследования и значении разных форм в патогенезе тромбообразования. До последнего времени предполагалось, что дефицит ПС наследуется по аутосомно-доминантному типу с неполной пенетрантностью. Однако в последние годы было показано, что наследование осуществляется по аутосомно-рецессивному типу, что одна и та же мутация гена ПС может встречаться у лиц с тромботическими эпизодами из семей с наследственной тромбофилией и у родственников, не имеющих клинических проявлений, но являющихся носителями мутации. Выделяют 2 типа дефицита ПС:

- Тип I (гипоформа) - количественный дефицит с пропорциональным снижением антигена и активности ПС.
- Тип II (дисформа) - качественный дефект, при котором на фоне сниженной активности антигена ПС нормальный.

Расчет показал, что гетерозиготное носительство гена дефицита ПС повышает риск венозного тромбоза в 7 раз. Частота мутации у здоровых лиц составляет 0,2-0,3%, у отдельных пациентов с эпизодами тромбоза глубоких вен дефицит ПС встречается в 3% случаев, а в семьях с наследственной тромбофилией - 6%.

Значение дефицита ПС, как изолированного дефекта в патологическом тромбообразовании, также дискутируется. Видимо, в детстве тромбозы развиваются у лиц с гомозиготным носительством. При сочетании с другими дефектами даже гетерозиготное носительство дефицита ПС приводит к возникновению тромботических эпизодов в детском возрасте. Были описаны сочетания с дефектом ф. V Лейден. По некоторым данным это сочетание встречается в 20% семей с наследственной тромбофилией и дефицитом ПС. Дефицит ПС встречается как при артериальных, так и при венозных тромбозах. Тромботические проявления у пациентов с изолированным гетерозиготным дефицитом ПС, как правило, начинаются после 15 лет. Для пациентов с глубоким дефицитом ПС при гомозиготном носительстве характерны тяжелые ранние тромботические проявления в виде неонатальной фульминантной пурпуры или ДВС-синдрома в первые дни жизни при активности ПС <1%. Это состояние практически не совместимо с жизнью. Если активность ПС составляет 5-25%, то рецидивирующие эпизоды тромбоэмболии проявляются позже.

Лабораторная диагностика: определение активности и антигена протеина С.



### Клинический пример 3

Больная 34 лет. Обратилась в гематологический центр 10 лет назад по поводу привычного невынашивания беременности и возникновения на ее фоне тромбозов вен нижних конечностей. Из анамнеза заболевания установлено, что на сроке 12-14 недель развился острый илеофemorальный флeботромбоз слева, по поводу которого проведена тромбэктомия, назначено лечение гепарином, непрямыми антикоагулянтами. На сроке 16-17 недель возникли схваткообразные боли внизу живота с самопроизвольным выкидышем. Две предыдущие беременности закончились выкидышами при сроке 6-8 недель. Во время четвертой беременности развился тромбоз глубоких вен бедра и голени справа, осложнившийся ТЭЛА. Беременность прервалась на сроке 12-13 недель после проведения пункции нижней полой вены. При исследовании гемостаза обнаружены АПТВ - 35 с (контроль 39 с), ПВ - 16 с (норма 16 с), тромбиновое время - 15 с (контроль 15 с), фибриноген - 3,5 г/л. При повторных исследованиях отмечался повышенный уровень РФМК в плазме - от 4,5 до 6,0 мг% (норма 3,5 мг%), замедление ХИ-зависимого фибринолиза от 12 до 20 минут (контроль 6 минут), высокий уровень спонтанной агрегации тромбоцитов - от 30 до 38% (контроль до 20%). Активность АТIII - 120%, протеина S - 105%, протеина C при повторном определении клоттинговым методом - от 30 до 43%, при использовании хромогенных субстратов активность протеина C составила 30%. После проведенного обследования у больной вновь наступила беременность, в течение всего срока которой она получала антитромботическую терапию фраксипарином. Беременность закончилась в 39-40 недель родами здорового ребенка. Учитывая характер тромбофилии, от назначения непрямым антикоагулянтов воздержались.

### *Дефицит протеина S*

Описания дефицита PS, как причины тромбо-филии, появились в конце 1984 года. Наследование дефекта происходит по аутосомно-доминантному пути с неполной пенетрантностью. К настоящему времени описано более 70 генетических дефектов у пациентов с дефицитом PS. PS в плазме присутствует в двух видах - свободный (примерно 40% от общего) и связанный с C4-связывающим протеином (60% соответственно). Свободный PS является активным антикоагулянтом, его уровень коррелирует с клиническими симптомами тромбоза. Выделяют три типа дефицита PS:

- Тип I - количественное снижение PS (пропорциональное снижение активности и антигена PS).
- Тип II - качественный дефект (сниженная активность при нормальном или непропорционально сниженном антигене).
- Тип III - снижение свободного PS при нормальном общем.

Частота дефицита PS у больных с венозными тромбозами составляет 1-2%, в семьях с наследственной тромбофилией - 6%. Частота мутации в популяции неизвестна; по расчетам она



составляет 1:33 000.

Тромбозы у пациентов с изолированным гетерозиготным носительством, как правило, впервые проявляются у взрослых. Однако сочетание дефицита PS с другими факторами, предрасполагающими к тромбозам, приводит к более ранним эпизодам патологического тромбообразования. Гомозиготное носительство встречается чрезвычайно редко. К настоящему времени описано только 2 пациента с проявлениями, аналогичными проявлениям при гомозиготном носительстве дефицита PS. Значение гетерозиготного носительства в патологическом тромбообразовании изучается. По разным данным гетерозиготное носительство может увеличивать риск тромбоза в 1,5-6-10 раз. При этом основную роль играет уровень свободного PS.

Описаны случаи появления вторичного ингибитора к протеинам C и S, которые клинически проявляются аналогичным образом. Причинами вторичного дефицита PS могут быть заболевания печени, передозировка непрямых антикоагулянтов, дефицит витамина K, заболевания почек, коагулопатия потребления, беременность, длительные лихорадки, сопровождающиеся острофазной реакцией с повышением C4-связывающего протеина.

Лабораторная диагностика: исследование активности свободного PS, антигена PS

### ***Мутация протромбина 20210A***

Описана в 1996 году Poort с соавторами. Точечная мутация (аденин замещен гуанином) в позиции 20210 3' нетранслируемого региона гена протромбина, что приводит к повышению уровня протромбина (сам протромбин не изменен) в крови и ассоциируется с повышенным риском тромбообразования. Каких-либо других изменений со стороны протромбина при этой мутации выявить не удалось. Расчетная частота этой мутации в европейской популяции составляет 2-3%, а в средиземноморском регионе - 4-5%. У лиц с эпизодами венозных тромбозов, особенно тромбозов нижних конечностей, протромбин 20210A встречается в 6—10% случаев. От 4 до 8% пациентов с впервые выявленным тромбозом глубоких вен имеют эту мутацию. Роль этой мутации в развитии артериальных тромбозов изучается. Гомозиготные носители этой мутации редки. Гетерозиготное носительство по расчетам повышает риск венозного тромбообразования в 2-3 раза. Как правило, первые эпизоды тромбозов возникают у взрослых и связаны с присоединением возрастных факторов риска. Особенно сильно риск тромбофилии возрастает при сочетании этой мутации с другими факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний - курением молодых женщин, ожирением, гипертонией, сахарным диабетом.

Лабораторная диагностика: молекулярный анализ гена протромбина.

### ***Дефицит антитромбина***

Первое сообщение о дефиците AT, как о факторе риска патологического тромбообразования, было сделано в 1965 году Egeberg. В настоящее время описано более 80 мутаций гена AT. Наследование - аутосомно-доминантное с неполной пенетрантностью. Выделяют два типа дефицита AT:

- *Тип I* - количественный дефект, приводящий к пропорциональному снижению активности

и антигена АТ:

- *подтип Ia* - снижение синтеза АТ;
- *подтип Ib* - увеличенная скорость распада (выведения).
- *Тип II* - качественный тип, характеризуемый снижением активности при нормальном антигене АТ:
  - *подтип IIa* - дефект активного центра (измененное свойство реактивировать тромбин) и участка связывания гепарина (измененная реактивность с гепарином);
  - *подтип IIb* - дефект активного центра;
  - *подтип IIc* - дефект участка связывания гепарина.

При II типе функциональный дефицит АТ возникает в результате различных мутаций, требуются дополнительные исследования, в частности определение гепарин-связывающих свойств АТ.

Гомозиготных носителей гена дефицита АТ не описано: предположительно эта мутация не

совместима с жизнью, дети погибают внутриутробно или вскоре после рождения. Однако были описаны гомозиготные носители дефекта связывания АТ с гепарином. Гетерозиготное носительство встречается у 0,05-1% здоровых лиц в популяции, у 1% лиц с первым в семье случаем венозного тромбоза и в 4% семей с наследственной тромбофилией.

Вторичное снижение АТ может иметь место при лечении гепарином или НМГ (фрагмин, фраксипарин, ловенокс, клексан), заболеваниях печени, нефротическом синдроме, лечении L-ас-парагиназой, эстрогенами, при коагулопатиях потребления. Уменьшение активности АТ на 25-30% сопровождается развитием гепаринорезистентности, что может вызвать появление рикошетных тромбозов. На неэффективность антикоагулянтного действия гепарина указывает отсутствующее удлинение АЧТВ, персистенция и даже повышение фибринопептидов А и В или других маркеров активного фибринообразования. Если же имеет место дефицит или врожденная аномалия АТ, то антикоагулянтный эффект гепарина будет изначально ослаблен. Во всех этих случаях необходим контроль за активностью АТ в плазме. При значительном дефиците АТ и высоком риске тромбозов показано введение большим концентратов АТ или инфузия свежезамороженной плазмы.

АТ иногда рассматривается как отрицательный реактант острой фазы воспаления, уровень его снижается при инфекциях. Активность АТ (но не его концентрация) существенно уменьшается при инсулин-зависимом сахарном диабете I типа, причем снижение активности АТ коррелирует с уровнем гликирования плазменных белков.

Расчетное повышение риска тромбообразования у лиц с гетерозиготными мутациями гена АТ - 5-10 раз. Сроки начала первых проявлений и тяжесть течения заболевания во многом зависят от остаточной активности АТ и сочетания этого дефекта с другими факторами тромбофилии.

Тромбозы при дефиците АТ локализуются как в венозной, так и в артериальной системе.

Лабораторная диагностика: определение активности АТ хромогенным методом, а также антигена АТ.

### ***Гипергомоцистеинемия***

Гомоцистеин - аминокислота, производное метионина, в клетке имеет два пути метаболизма (рис. 137): 1) реметилирование в метионин с участием ферментов метионинсинтазы (кофактором является кобаламин), 5,10-метилентетрагидрофолатредуктазы и бетаинметионинметил-трансферазы; 2) транссульфирование в цистеин с участием цистатионинсинтазы, кофактором которой является пиридоксин. В плазме гомоцистеин окисляется в дисульфиды и смешанные дисульфиды и находится как в свободной, так и в связанной с белком форме (общий гомоцистеин). Нормальная концентрация в плазме составляет 5-16 мкмоль/л.

У взрослых лиц гипергомоцистеинемия (ГГЦ) может быть врожденным и приобретенным дефектом, у детей, как правило, - следствие дефицита ферментов, метаболизирующих гомоцистеин. Наиболее тяжелые формы ГГЦ связаны с дефектом цистатионин-бета-синтазы. Частота ее гомозиготного носительства среди населения составляет от 1:200 000 до 1:335 000, гетерозиготное - встречается в 0,3-1,4%. Полиморфизм метилентетрагидрофолатредуктазы широко распространен в европейской популяции. Гетерозиготное носительство, по некоторым данным, встречается у 60% лиц европеоидной расы. Гомозиготный полиморфизм, по разным данным, - у 5-15%. Гораздо реже встречаются дефекты других ферментов, метаболизирующих гомоцистеин.

Умеренное повышение гомоцистеина в крови выявляется примерно в 10% случаев всех венозных тромбозов. Расчетное повышение риска тромбообразования составляет 2,5 раза. Тяжелая гипергомоцистеинемия (с уровнем гомоцистеина более 100 мкмоль/л) ассоциируется с рецидивирующими артериальными и венозными тромбозами, проявляющимися с детства. Приобретенная гипергомоцистеинемия связана с недостаточным поступлением с пищей кобаламина, фолиевой кислоты или пиридоксина, применением лекарственных препаратов, нарушающих функции ферментов или обмен витаминов.

Для гипергомоцистеинемии характерно возникновение как артериальных, так и венозных тромбозов. Патогенез развития тромбофилии при гипергомоцистеинемии изучен недостаточно. Есть данные, что происходит нарушение антико-агулянтных свойств эндотелия за счет десквамации эндотелиальных клеток, снижения экспрессии тромбомодулина и гепарансульфатов, ПГ<sub>2</sub>, ингибируется тканевой активатор плазминогена, активируется экспрессия тканевого фактора и ф.Х. Кроме того, вторичные производные гомоцистеина (например, гомоцистеин-тиолактон), уровень которых в крови возрастает при гипергомоцистеинемии, вызывают активацию тромбоцитов и выделение ТхА<sub>2</sub>. Активно обсуждается повреждающий механизм оксидативного стресса, возникающего при гипергомоцистеинемии и приводящего к неферментативным окислительно-восстановительным реакциям. В процессе окисления сульфгидрильных групп гомоцистеина и гомоцистеин-тиолактона образуются перекисные анионы ( $O^-$ ,  $OH^-$ ) и  $H_2O_2$ , которые инициируют перекисное окисление липидов. Это сопровождается повреждением мембран эндотелиальных клеток и образованием окисленных липопротеидов. Перекисные радикалы могут переводить вазодилататор NO в форму пероксинитритов  $OONO^-$

(NO<sup>-</sup>), не обладающих вазодилататорными свойствами.

Лабораторная диагностика: исследование содержания гомоцистеина в плазме, молекулярный анализ генов, участвующих в метаболизме гомоцистеина, в том числе метилентетрагидрофо-латредуктазы.

#### **Клинический пример 4**

Больной 20 лет. Заболел остро. На фоне удовлетворительного самочувствия после незначительной физической нагрузки появились боли в левой голени, через сутки - отек голени, через 4 дня отек распространился на бедро, боли усилились.

*В семейном анамнезе:* у бабушки по отцу - тромбозы глубоких вен нижних конечностей, у прадедушки - острый инфаркт миокарда, у дедушки - ишемический инсульт, у отца - тромбоз глубоких вен нижних конечностей.

*Обследование:* на ретроградной илеокавагра-фии определялся тромбоз илеофemorального сегмента слева с пристеночным тромбозом нижней полой вены. Дальнейшее обследование выявило: правосторонний нефроптоз II степени, системная ангиодисплазия - увеличенный диаметр вен, дис-плазия органических протоков (печени, поджелудочной железы). Была начата антикоагулянтная терапия.

При исследовании системы гемостаза был выявлен гиперагрегационный синдром (спонтанная агрегация тромбоцитов составила 32%, при контрольном показателе - до 20%, стимулированная агрегация на АДФ - 90%, адреналин - 94%, коллаген - 92%). Дополнительно обнаружен повышенный уровень гомоцистеина в сыворотке - 12,6 мкмоль/л.

Таким образом, у больного выявлена гематогенная тромбофилия с умеренной гипергомо-цистеинемией и гиперагрегационным синдромом. Из анамнеза можно сделать вывод о семейном (наследственном) характере тромбофилии.

Назначена специфическая антикоагулянтная терапия, даны рекомендации по долгосрочной профилактике тромбозов.

#### *Гиперлиппротеинемия (a)*

Липопротеид (a) [ЛП(a), Lp(a)] - липопро-теид-ассоциированный антиген. Апо(a) - апопро-теин, состоящий из 4529 аминокислот; соединяясь с липопро-теидом низкой плотности (ЛПНП) дисульфидным мостиком, образует ЛП(a). ЛП(a) -сходная с ЛПНП, обогащенная ХС и белком частица, содержит молекулу Апо(a) в дополнение к молекуле Апо-В (рис. 138).

Концентрация ЛП(a) в сыворотке широко варьирует от 2 до 1200 мг/л. Особый интерес представляет выявление сходства в аминокислотной последовательности Апо(a) и плазмино-гена. Плазминоген содержит 791 аминокислоту, включая пять богатых цистеином последовательностей из 80-114 аминокислот каждая, называемых «kringle», и участок обладающей активностью сериновой протеазы. Апо(a) содержит 37 копий 4 «kringle» плазминогена, за которыми следует 5-й «kringle» и участок протеазы. Апо(a), тем не менее, не обладая ферментативной активностью сериновой протеазы, не способен превращаться в активный плазминоподобный фермент. Увеличение концентрации ЛП(a) в крови считают независимым фактором риска атеросклероза и инфаркта миокарда. Концентрация ЛП(a) выше 300 мг/л связана с 2-кратным повышением риска ИБС и 5-кратным увеличением риска

ИБС,

если одновременно повышена концентрация ЛПНП. У детей выраженная гиперлипопротеинемия также может приводить к развитию атеросклероза и ранним проявлениям атеротромбо-за. Последние данные указывают, что гиперлипопротеинемия является независимым фактором риска венозного тромбоза у детей. Причина атерогенности ЛП(а) выяснена не до конца. Наиболее вероятно, что атерогенность обусловлена высокой способностью ЛП(а) взаимодействовать с белками клеточного матрикса, такими, как фибронектин и протеогликаны. Образующиеся комплексы активно поглощаются моноцитами, макрофагами и гладкими мышечными клетками, в результате клетки трансформируются в пенные. ЛП(а) может ингибировать фиб-ринолиз, повышая риск развития тромбоза и атеросклероза. Структурное сходство между Апо(а) и плазминогеном, возможно, и определяет связь между атерогенезом и тромбозом. В то же время прямого влияния ЛП(а) на развитие тромбофи-лии не показано, однако повышенный уровень ЛП(а) существенно увеличивает вероятность проявления тромбофилии в комбинации с другими факторами риска.

Лабораторная диагностика: определение количества ЛП(а) иммунохимическими методами (турбидиметрия, нефелометрия и др).

### ***Высокая активность фактора VIII и фактора Виллебранда***

Значение высокой активности ф.УШ и vWF, как независимого фактора риска патологического тромбообразования, изучается. Примерно у 25% пациентов с венозными тромбозами выявлено повышение ф.VIII. У 16% лиц с тромботическими эпизодами выявлено повышение активности ф.VIII выше 150%. В целом при исследовании европейской популяции у 11% людей была определена активность ф.VIII выше 150%. Расчеты показали, что риск тромбоза у лиц с активностью ф.VIII в пределах 100-150% в 2,7 раза выше, чем в среднем в популяции, а при активности выше 150% риск возрастает в 6 раз.

В ряде работ изолированное значение высокой активности ф.VIII и vWF ставится под сомнение, так как эти белки повышаются при воспалении, а их высокая активность у лиц с тромбозами может быть следствием посттромботического воспаления и не являться генетически детерминированным фактором. Однако было показано, что высокая активность ф.VIII не коррелирует с повышением других белков острой фазы воспаления. Следовательно, высокая активность ф.VIII может быть независимым генетически детерминированным фактором риска тромбоза.

Сверхвысокомолекулярный фактор Виллебранда, содержащийся в депо (тромбоцитах и эн-дотелиоцитах), после выброса расщепляется до форм с нормальной молекулярной массой. Нарушение этого процесса вследствие мутации самого vWF или редуцирующих его молекулярную массу металлопротеаз может быть причиной патологической агрегации тромбоцитов в кровеносном русле и вести к тромбозам.

Лабораторная диагностика: исследование активности ф.VIII и vWF, анализ мультимеров фактора Виллебранда.

### ***Дисфибриногенемия***

Описано около 45 различных мутаций фибриногена, приводящих к тромботическим проявлениям. Протромботическая дисфибриногенемия встречается у взрослых, имевших тромботические эпизоды примерно в 1% случаев. Причинами развития тромбоза при тромботических дисфибриногенемиях являются: снижение фибринолиза из-за нарушения связи тканевого активатора плазминогена (t-РА) и плазминогена с аномальным фибрином, аномальная сборка фибрина, дефект активации плазминогена аномальным фибрином, сформированным из аномального фибриногена.

Клинически для тромботических дисфибриногенемий характерны венозные и артериальные тромбозы и тромбоэмболии легочных артерий. Гомозиготные дисфибриногенемии очень редки и проявляются в детском возрасте инсультами, тромбозами брюшной аорты и постоперационными тромбозами.

### ***Другие врожденные аномалии, предрасполагающие к патологическому тромбообразованию***

*Дефекты тромбомодулина.* В некоторых исследованиях было показано, что около 5% семей с наследственной тромбофилией имеют дефект одного из генов ТМ. Также есть сообщения о том, что полиморфизм гена ТМ повышает риск артериального тромбоза, особенно в сочетании с дру-

гими факторами патологического тромбогенеза. Изучение активности ТМ затруднено из-за того, что он связан с мембраной эндотелиоцитов и отсутствует в кровотоке.

*Мутации гена тромбоцитарного рецептора GPIIb/IIIa, ингибитора активатора плазминогена.* Их значение в развитии тромбозов, распространенность в популяции и механизм развития тромбофилии изучаются, однако известно, что эта мутация приводит к возрастанию риска артериальных и венозных тромбозов.

*Пароксизмальная ночная гемоглобинурия,* видимо, может расцениваться как фактор, предрасполагающий к тромбозам.

*Возраст и атеросклероз.* Чрезвычайно важные факторы патологического тромбообразования. По мере старения организма риск тромботических осложнений значительно возрастает. Растущая атеросклеротическая бляшка вызывает местную дисфункцию и десквамацию эндотелия с развитием атеротромбоза.

