



# Новата представа за коагулационния процес

Доц. д-р Аделаида Русева<sup>1</sup>, доц. д-р Анелия Димитрова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Клинична лаборатория, УМБАЛ „Д-р Г. Странски“, гр. Плевен

<sup>2</sup>Катедра по Физиология и патофизиология, Медицински университет, гр. Плевен

В последните години клетъчно-базираният коагулационен модел измества хипотезата за каскадно протичане на процесите на кръвосъсирване. Възприемането на специалната роля на клетките в този процес допринася за разбирането на коагулационния механизъм като възникващ *in vivo* в динамично променящата се съдова система. Според новия модел, коагулационният процес се извършва върху различни клетъчни повърхности в три застъпващи се етапа: инициране, усилване и разпространение.

Хемостазата представлява защитен механизъм, отговорен за предотвратяване на кръвозагуба от мястото на увреда на кръвоносната система. Същевременно този процес трябва да бъде контролиран, така че да не се получат интраваскуларни коагулуми, които да възпрепятстват нормалния кръвоток. С оглед изучаване механизмите на хемостазата са извършвани много изследвания, като болшинството от тях са провеждани *in vitro*, в статична безклетъчна среда<sup>[1]</sup>.

## ■ Предишни модели на коагулация

През 1905 г. П. Моравиц създава коагулационна теория, включваща в схемата четири „коагулационни фактора“. Според тази теория, в присъствие на калций и тромбопластин, протромбинът се превръща в тромбин, който от своя страна превръща фибриногена във фибрин и се формира фибриновият съсирек. Според Моравиц всички компоненти на съсирващата система се намират в циркулиращата кръв, а фактът, че тя нормално не се съсирва се дължи на отсъствието на мокреци повърхности в кръвоносните съдове. Тази теория господства около 40 год.

П. Оурен (1947) счита, че склонността към кървене не може да се обясни със съществуващата концепция за 4<sup>те</sup> фактора, а проблемът е в отсъствието на пети плазмен фактор. През 40<sup>те</sup> и 50<sup>те</sup> години на ХХ<sup>ти</sup> век се откриват още нови коагулационни фактора, обозначавани с римски цифри в зависимост от последователността на откриване<sup>[2]</sup>.

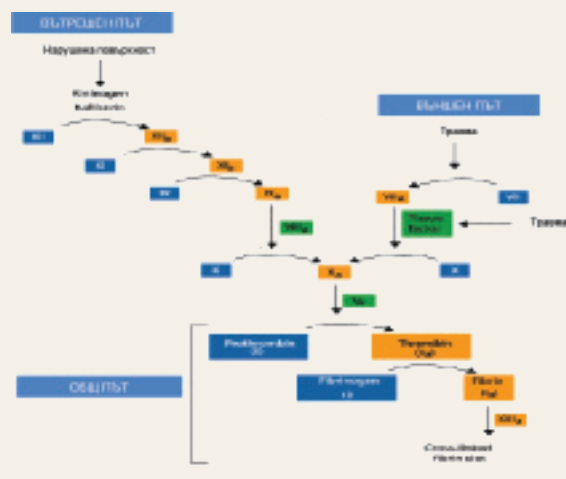
## ■ Каскаден модел на коагулацията

През 60<sup>те</sup> год. на миналия век два независими колектива от биохимици предлагат коагулационен модел, в който активирането на един фактор води до активирането на следващия с резултат – генериране на тромбин. (Фиг. 1). Каскадният модел е описан за пръв път в публикация на Macfarlane (1964) в списание Nature и по-късно същата година от Davie и Ratnoff в списание Science. По-късно оригиналният каскаден модел е бил модифициран с разбирането, че не всички

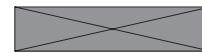
ФИГУРА 1

### Каскаден модел за образуване на тромбин

Модифициран по: [www.frca.co.uk/article.aspx?articleid=100805](http://www.frca.co.uk/article.aspx?articleid=100805)[21]



ПРОДЪЛЖАВА НА СТР. 5



ПРОДЪЛЖЕНИЕ ОТ СТР. 6

коагулационни фактори са проензими, които могат да бъдат превърнати в активни ензими. Част от тях се определят като кофактори, непритежаващи ензимна активност. Схематично коагулационният процес се представя като Y-образно с разграничени външен и вътрешен път. Фактор VIIa и тъканен фактор – TF (появява се само като външен по отношение на циркулиращата кръв) са в основата на външната система, докато факторите на вътрешната система се приемат изцяло като интраваскуларни. И двете системи могат да активират фактор X, който в комплекс с неговия кофактор Va, могат да превърнат протромбина в тромбин. Това продължава до генерирането на достатъчно тромбин, който да превърне фибриногена във фибрин<sup>[3]</sup>.

Каскадният модел е изключително полезен за разбирането, как протичат ензимните коагулационни процеси в плазмата *in vitro*. Той е полезен и поради факта, че може да се използва за клинична интерпретация на лабораторните тестове за коагулационни нарушения. Така, дефекти във външния или общия път се идентифицират чрез удължаване на протромбиновото време (PT), докато недоимък на фактори от вътрешния или общия път се отразяват с удължаване на теста активирано парциално тромбoplastиново време (APTT)<sup>[4]</sup>.

Същевременно трябва да се има предвид, че каскадният модел обяснява коагулационния процес, възникващ в плазма, която е статична и не взаимодейства със съдовата стена и клетъчните повърхности. Y-образната схема на коагулация е удобна за разбирането как протича коагулационният процес в плазмена среда, *in vitro*, но не отразява адекватно протичането на този процес *in vivo*. Така, недоимък на някои от инициращите фактори на вътрешния път – FXII, HMK (високомолекулни кининогени) или РК (прекаликреин) води до значимо удължаване на APTT, но клинично не съществува тенденция към кървене. Недоимък на следващия в каскадния модел FXI (хемофилия C) протича с различна по сила склонност към кървене, несвързана със степента на факторния дефицит. Дефицитът на FVIII (хемофилия A) или FIX (хемофилия B) обаче, има за резултат сериозно кървене, независимо от факта, че тези пациенти имат интактна външна коагулационна система. Ако механизмът на коагулация представляваше стъпално активираща се каскада, то дефицитът на началните фактори би имал за резултат по-изразени тенденции към кървене, в сравнение с дефицит на фактори, представени по-ниско в коагулационния модел. Аналогично, дефицитът на FVII (външна система) се манифестира с кървене, независимо от възможността за протичане на кръвосъсирването по интактната вътрешна система<sup>[3,5,6,7,8,9,10]</sup>.

## ■ Клетъчно-базиран модел на коагулация

През последните години стана ясно, че контактът на кръвта с клетки, експресиращи тъканен фактор на повърхността

си, е необходимо и достатъчно условие за стартиране на коагулационния процес *in vivo*. Тази хипотеза заедно с експериментално потвърждение се представя в серия от публикации от няколко изследователи от отделението по патология в университета Duke и университета на Северна Каролина. Те считат, че ключът към правилното разбиране на коагулационния процес е включването на ролята на клетките. Този концептуален модел се базира на клетъчно-базиран експериментален модел, включващ моноцити, култивирани с цел индуциране на TF, неактивирани тромбоцити, както и факторите II, V, VIII, IX, X, XI, а също така и инхибитори – инхибитор на тъканния фактор (TFPI) и анти тромбин III (AT III). Счита се, че за стартиране на коагулационния процес е необходимо съвместното участие на два типа клетки: клетки с TF-експресия и тромбоцити и че той протича в три застъпващи се фази – инициране, усилване и разпространение. Процесът на коагулация може да се предотврати, поне частично, чрез недопускане контакта между двата типа клетки, до момента, в който възникнало увреждане не направи необходимо активирането на коагулационната система. По това време и в конкретната област на увреждане тези интра- и екстравакуларни клетки могат да влязат в контакт<sup>[2,3]</sup>.

### ■ Инициране на коагулацията върху клетки с TF-експресия

Приема се, че *in vivo* коагулационният процес се иницира от TF. Клетки с TF-експресия се откриват обичайно екстравазално и по този начин се възпрепятства иницирането на коагулационния процес при нормални условия. Някои циркулиращи клетки, като моноцити и туморни клетки, могат също да експресират върху клетъчните си мембрани TF, който обаче се счита за неактивен при нормални условия и чиято роля не е напълно изяснена.

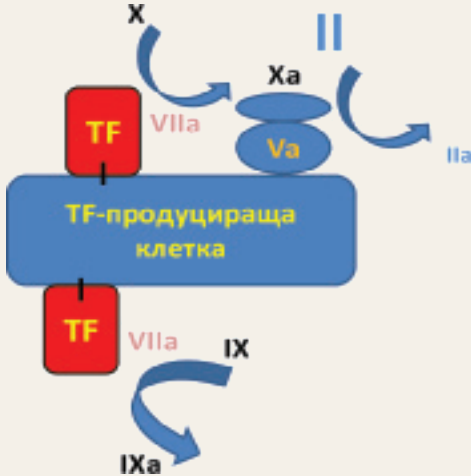
При възникване на увреда F VIIa от кръвта бързо влиза в контакт с клетките, експресиращи TF. F VIIa е единственият коагулационен протеин, който циркулира в кръвта в неактивна и активна форма – около 1% от общия F VII е F VIIa. Комплексът VIIa/TF активира допълнително количество F VII до F VIIa, както и малки количества от фактори IX и X. Активираният Xa фактор, заедно с неговия кофактор, фактор Va, образуват протромбиназен комплекс на повърхността на клетките с TF-експресия (Fig. 2). Всеки активен Xa фактор, отделен от клетките с TF-експресия, бързо се инхибира в кръвта от TFPI и ATIII. Така тези инхибитори ефективно локализируют активността на фактор Xa на мястото на неговото образуване и той не може да се предвижда от една клетъчна повърхност към друга. За разлика от него, фактор IXa може да премества от клетка с TF-експресия до съседен тромбоцит или друга клетъчна повърхност, тъй като не се инхибира от TFPI, а инхибирането му от ATIII е много бавно.<sup>[3,5,11,12,13]</sup>

В екстравакуларното пространство ниски нива на TF-иницирана коагулационна активност може да възникне по всяко време, т.е. вероятно фактор VII е свързан с извън-

**ФИГУРА 2**

**Инициране върху TF-експресиращи клетки**

Модифицирано по: M. Hoffman In: Remodeling the Blood Coagulation Cascade. Journal of Thrombosis and Thrombolysis 16(1/2), 17-20, 2003.



съдов TF дори и в отсъствие на увреда, а екстраваскуларните фактори X и IX могат да бъдат активирани, тъй като те преминават през тъканите. Тази идея съвпада с находката на ниски нива на активационни пептиди на коагулационни фактори в кръвта на нормални индивиди. Този феномен е известен като „базална коагулация“. При нормални обстоятелства тази базална коагулация не довежда до формиране на съсирек, защото повечето компоненти на коагулационния процес, като тромбоцитите и F VIII/vWF, се намират само в интраваскуларното пространство, а само до образуване на минимално количество тромбин. Коагулационен процес започва само при настъпило увреждане, когато тези интраваскуларни компоненти напуснат съдовото пространство и адхезират по TF-експресиращи клетки в екстрацелуларното пространство<sup>[3,5,11,12,13]</sup>.

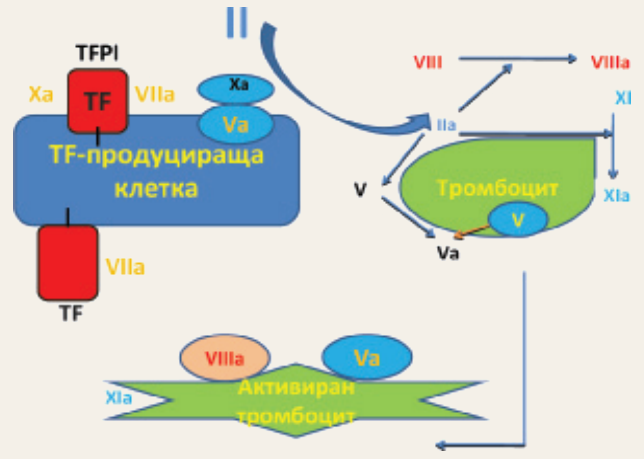
■ **Усилване на прокоагулантния сигнал**

Хемостатичните компоненти, които поради големите си размери нормално се откриват само във вътресъдовото пространство, могат да го напуснат в резултат на съдово увреждане. При това, те влизат в контакт с образуваното през първата фаза по TF-експресиращи клетки минимално количество тромбин, който изпълнява няколко съществени функции (Фиг. 3). Една от тях е активирането на тромбоцитите. При съдова увреда тромбоцитите се залепват на увреденото място, образувайки тромбоцитна запушалка и се активират под действието на тромбина. Друга функция е свързана с активирането на кофактори V и VIII върху активиранията тромбоцитна повърхност, при което комплексът VIII/vWF се дисоциира и vWF медира адхезията и агрегацията на нови тромбоцити на мястото на увреждането. Наличието на малко количество тромбин позволява и активирането на фактор XI до XIa. Това би могло да обясни защо F XII и

**ФИГУРА 3**

**Малко количество тромбин, генерирано върху TF-експресиращи клетки, усилва прокоагулантния отговор**

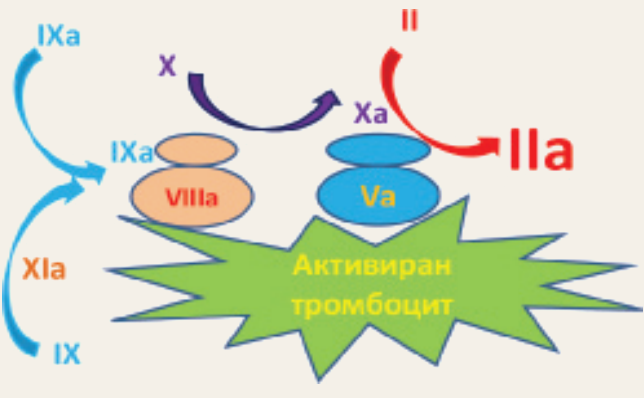
Модифицирано по: M. Hoffman In: Remodeling the Blood Coagulation Cascade. Journal of Thrombosis and Thrombolysis 16(1/2), 17-20, 2003.



**ФИГУРА 4**

**Необходимият за ефективна хемостаза тромбин се образува върху тромбоцитна повърхност по време на фазата на разпространение**

Модифицирано по: M. Hoffman In: Remodeling the Blood Coagulation Cascade. Journal of Thrombosis and Thrombolysis 16(1/2), 17-20, 2003.



други контактни фактори не винаги са необходими за коагулационния процес, както се приемаше в коагулационния модел. Активиранията в тази фаза тромбоцитите се покриват с активирани кофактори и F XIa и фазата на усилване на коагулационния процес преминава във фаза на разпространение<sup>[3,8,9,12,14,15,16,17]</sup>.

■ **Разпространение**

Фазата на разпространение се осъществява върху повърхността на активирани тромбоцити, където се образуват теназният (F VIIIa/F IXa) и протромбиназен (F Va/F Xa) комплекси (Фиг. 4). Активиранията през първата фаза фактор IXa мигрира върху тромбоцитната повърхност и се свързва



ПРОДЪЛЖЕНИЕ ОТ СТР. 8

с неговия кофактор VIIIa. Допълнително количество IXa се получава под действие на тромбоцитно свързания XIa фактор. Теназният комплекс доставя директно фактор Ха върху тромбоцитната повърхност, тъй като последният не може да се прехвърли от TF-експресиращите клетки върху повърхността на активираните тромбоцити. Върху тромбоцитната повърхност вече се намира и неговият кофактор – Va. Образоването на протромбиназния комплекс върху тромбоцитите довежда до генериране на голямо количество тромбин, достатъчно за образуване на съсирек<sup>[3,8,13,14,15,18]</sup>.

Според клетъчно-базирания модел тромбоцитите са единствените клетки, върху които ефективно се осъществява третата фаза на коагулация. Единствено върху тяхната повърхност се образуват теназният и протромбиназен комплекси. Този модел обяснява и ролята на фактор XIa – увеличаване количеството на фактор IXa върху тромбоцитната повърхност. Това допълнително увеличава количеството на фактор Ха върху тромбоцитите, респективно на количеството и скоростта на образуване на тромбин. При наличие на достатъчно количество тромбин, генериран с достатъчна скорост, се получава критична маса разтворими фибринови молекули. В резултат на тяхната спонтанна полимеризация се образува неразтворим фибринов матрикс<sup>[3,8,13,14,15,18]</sup>.

Новият клетъчно-базиран модел на коагулация дава отговор на някои въпроси, които базират се на каскадния модел не можеха да получат задоволителен отговор, като напр.:

➤ *Защо външният път на коагулация не е ефективен при недоимък на фактори VIII или IX?*

Според клетъчно-базирания модел е еднакво важно да функционират както теназният, така и протромбиназният комплекс. В случаите на хемофилия поради недоимък на F VIIIa/F IXa се получава дефицит на теназния комплекс, F X не се активира върху тромбоцитите, с което количеството на протромбиназния комплекс намалява, респективно на количеството протромбин, превърнато в тромбин<sup>[8,15,19]</sup>.

➤ *Защо хемофилията не се лекува чрез F Ха, заобикаляйки дефицита на теназния комплекс?*

Според клетъчно-базирания модел полученият през първата фаза F Ха не може да мигрира върху тромбоцитната повърхност поради инхибирането му от TFPI и ATIII в плазмата. Същото се случва и с F Ха, използван за лечение на пациенти с хемофилия. Активираният Ха фактор от TF/F VIIa, както и този внесен отвън, не са така ефективни при генерирането на тромбин, както е F Ха върху тромбоцитната повърхност. Последният е протектиран от плазмените инхибитори, тъй като остава върху тромбоцитите. Резултатът от нефункциониращите комплекси е недостатъчно генериран тромбин, респ. тенденция към кръвене, характерна за хемофилията<sup>[8,15,19]</sup>.

➤ *Защо при дефицит на F XI се наблюдава само лека или дори липсваща тенденция към кръвене?*

Според клетъчно-базирания модел формиращите се върху тромбоцитната повърхност теназен и протромбиназен комплекси са функционални дори при дефицит на F XI. Това е възможно, тъй като коагулационният механизъм осигурява достатъчно тромбин върху клетъчната повърхност, т.е. F XI не е основен фактор за генериране на тромбин, както са F IX и F VIII, и неговият дефицит не нарушава хемостазата в степента, наблюдавана при дефицит на тези фактори<sup>[8,20]</sup>.

## ■ Заключение

Този обзор представя обобщено новото разбиране за механизма на коагулационния процес, за съществената и незаменима роля на клетките в него. Според този модел външният и вътрешен път на коагулация представляват по-скоро паралелни генератори на F Ха, възникващ върху различни клетъчни повърхности. За възникване на ефективна коагулация е необходимо тромбинът да бъде генериран директно върху повърхността на активираните тромбоцити, а не само върху TF-експресиращи клетки. ■

## КНИГОПИС:

1. Furie B, Furie BC. In vivo thrombus formation. J Thromb Haemost 2007; 5(suppl 1):12-17.
2. James P. Riddell, Bradley E. Aouizerat, Christine Miaskowski, David P. Lillicrap. Theories of Blood Coagulation. Journal of Pediatric Oncology Nursing. Vol 24, No 3 (May-June), 2007; pp 123-131.
3. Maureane Hoffman Remodeling the Blood Coagulation Cascade. Journal of Thrombosis and Thrombolysis 16(1/2), 17-20, 2003.
4. Mann KG, Brummel K, Butenas S. What is all that thrombin for? J Thromb Haemost 2003; 1(7):1504-1514.
5. Roberts HR, Hoffman M, Monroe DM. A cell-based model of thrombin generation. Semin Thromb Hemost 2006; 32 (suppl 1): 32-38.
6. Becker RC. Cell-based models of coagulation: a paradigm in evolution. J Thromb Thrombolysis 2005; 20(1):65-68.
7. Gailani D, Renne T. The intrinsic pathway of coagulation: a target for treating thromboembolic disease? J Thromb Haemost 2007; 5(6):1106-1112.
8. Gregory Romney, BA, Michael Glick. An updated concept of coagulation with clinical implications. JADA 2009, Vol 140(5):567-574.
9. Maureane Hoffman. A cell-based model of coagulation and the role of factor VIIa. Blood Reviews 2003, 17, 51-55.
10. Maureane Hoffman. Mechanism of action of NovoSeven using a cell-based model. Bloodline Reviews 2002, 1, 5-6.
11. Morrissey JH, Mutch NJ. Tissue factor structure and function. In Hemostasis and Thrombosis, 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2006, pp. 91-106.
12. Maureane Hoffman, Dougal M. Monroe. Coagulation 2006: A Modern View of Hemostasis Hematol Oncol Clin N Am 21, 2007, 1-11.
13. Kenichi A. Tanaka, Nigel S. Key, Jerrold H. Levy. Blood Coagulation: Hemostasis and Thrombin Regulation A&A May 2009 vol. 108 no. 5 1433-1446.
14. Stephanie A. Smith, MS DACVIM. The cell-based model of coagulation. Journal of Veterinary Emergency and Critical Care 19(1) 2009, 3-10.
15. Hoffman M, Monroe DM 3rd. A cell-based model of hemostasis. Thromb Haemost 2001;85(6):958-965.
16. Crawley JT, Zanardelli S, Chion CK, Lane DA. The central role of thrombin in hemostasis. J Thromb Haemost 2007; 5(suppl 1):95-101.
17. Baglia FA, Badellino KO, Li CQ, Lopez JA, Walsh PN. Factor XI binding to the platelet glycoprotein Ib-IX-V complex promotes factor XI activation by thrombin. J. Biol. Chem. 20002, 277, 1662-1668.
18. Schenone M, Furie BC, Furie B. The blood coagulation cascade. Curr Opin Hematol 2004; 11(4):272-277.
19. Butenas S, Orfeo T, Brummel-Ziedins KE, Mann KG. Tissue factor in thrombosis and hemorrhage. Surgery 2007; 142 (4 suppl):S2-S14.
20. Monroe DM, Hoffman M. What does it take to make the perfect clot? Arterioscler Thromb Vasc Biol 2006;26(1):41-48.
21. www.frca.co.uk/article.aspx?articleid=100805

ПРОДЪЛЖАВА НА СТР. 8