

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ И КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ФИБРИНОЛИЗА

Рустем Игоревич Литвинов*

Пенсильванский университет, Филадельфия, Пенсильвания, США

«Чтобы отложения фибрина...не закупорили просвет кровеносных сосудов, существует биохимический шоптол -фибринолитическая система с большой потенциальной активностью...»

Д. М. Зубаиров Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования, «ФЭн», Казань, 2000

Реферат

Фибринолиз — процесс протеолитического расщепления фибрина, направленный *in vivo* на растворение сгустков или тромбов и восстановление нарушенного кровотока. Фибринолитическая система крови образует сложный комплекс взаимосвязанных биохимических реакций, протекающих преимущественно на поверхности волокон фибрина, которые образуют структурную основу гемостатических сгустков и обтурационных тромбов. Обзор содержит краткое описание компонентов фибринолитической системы и наиболее важных реакции фибринолиза, включая их регуляцию.

Основной фермент в процессе лизиса фибрина — плазмин, сериновая протеаза, образующаяся из неактивного предшественника плазминогена под действием белков и ферментов, которые появляются в крови и/или активизируются при различных патологических процессах. Кроме фибрина, плазмин расщепляет другие белки и поэтому участвует в разных биологических процессах, помимо гемостаза и тромбоза. Есть несколько механизмов контроля избыточной фибринолитической активности, которые могут повреждаться при многих заболеваниях. Когда соотношение между про- и антифибринолитическими компонентами крови нарушено, развивается гипер- или гипофибринолиз, который вызывает и усугубляет соответственно кровоточивость или тромбоз. В статье дана оригинальная патогенетическая классификация нарушений фибринолиза и описаны механизмы первичного и вторичного гипо- и гиперфибринолиза при разных патологических состояниях.

Диагностика нарушений фибринолиза основана на клинических симптомах в сочетании с определением скорости растворения плазменных сгустков *in vitro* и уровня молекулярных маркеров. В работе изложены принципы лабораторной диагностики патологического фибринолиза, основанные на понимании молекулярных основ нормальных фибринолитических реакций и их нарушений. Лечение патологического фибринолиза подразделяется на коррекцию гипер- или гипофибринолитических состояний и соответственно предусматривает применение либо антифибринолитиков (ϵ -аминокапроновая и тренэжамовая кислоты), либо тромболитиков (главным образом активаторов плазминогена) в сочетании с другими мерами против кровотечения и тромбоза.

Ключевые слова: фибрин, тромбоз, фибринолиз, плазминоген, плазмин, тромболитическая терапия.

MOLECULAR MECHANISMS AND CLINICAL SIGNIFICANCE OF FIBRINOLYSIS R.I. Litvinov. University of Pennsylvania, Philadelphia, Pennsylvania, USA. Fibrinolysis is the process of proteolytic digestion of fibrin aimed in vivo at dissolving clots or thrombi to restore the blood flow. In blood, the fibrinolytic system comprises a network of interrelated biochemical reactions that occur predominantly on the surface of fibrin fibers, the structural scaffold of hemostatic clots and obstructive thrombi. This review provides a brief description of the fibrinolytic system components and of the most important fibrinolytic reactions, including their modulation. The central enzyme in fibrinolysis is plasmin, a serine protease formed from its inactive precursor, plasminogen, upon the action of proteins and enzymes, whose formation and/or activation is triggered by various pathological stimuli. Plasmin cleaves a variety of substrates other than fibrin and therefore is involved in a number of biological processes other than hemostasis and thrombosis. There are several mechanisms moderating the activity of fibrinolytic enzymes that may become altered in various diseases. When the ratio of blood pro- and antifibrinolytic compounds is altered, hyper- or hypofibrinolysis might develop that causes and/or exacerbates hemorrhage or thrombosis, respectively. The paper contains an original pathogenic classification of fibrinolytic disorders and describes mechanisms of the primary and secondary hypo- and hyperfibrinolysis in various pathological conditions. Diagnosis of fibrinolytic defects builds on clinical symptoms along with defining the time of serum clots dissolving *in vitro* and serum levels of molecular markers. The principles of laboratory diagnostics of pathological fibrinolysis, based on the comprehension of the molecular mechanisms of normal and impaired fibrinolytic reactions, are reviewed. Treatment of pathological fibrinolysis implies the correction of either hyper- or hypofibrinolytic conditions and, therefore, is based on the administration of either antifibrinolytics (ϵ -aminocaproic and tranexamic acids) or thrombolytics (mainly, plasminogen activators) in combination with other therapies against bleeding and thrombosis. **Keywords:** fibrin, thrombosis, fibrinolysis, plasminogen, plasmin, thrombolytics.

БИОХИМИЯ ФИБРИНОЛИЗА

Краткое описание фибринолиза

Через какое-то время после образования гемостатический сгусток или обструктивный тромб в кровеносном сосуде обычно растворяется фибринолитической системой. Расщепление фибрина катализирует протеолитический фермент плазмин (Pn), который образуется из

своего неактивного предшественника плазминогена (Plg) в результате действия активаторов. Ввиду широкой специфичности Pn расщепляет не только фибрин, но и ряд других субстратов, таких как белки внеклеточного матрикса, активирует протеазы и факторы роста, поэтому Plg и Pn вовлечены, помимо фибринолиза, в целый ряд физиологических и патологических процессов, например миграцию клеток, заживление ран, воспаление, эмбриогенез, овуляцию, ангиогенез, опухолевый рост и метастазирование, атеросклероз.

Адрес для переписки: litvinov@mail.med.upenn.edu

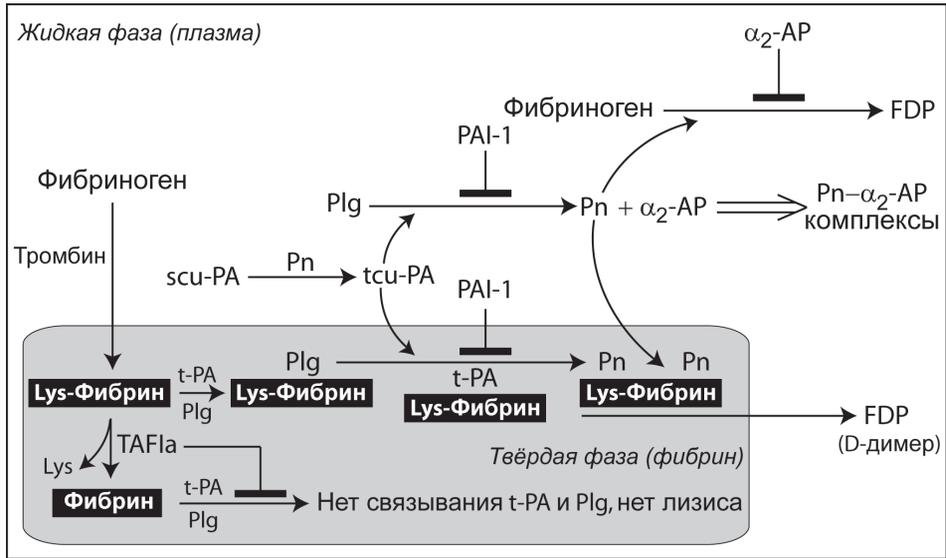


Рис. 1. Активация и регуляция фибринолиза на поверхности фибринового сгустка и в плазме крови. Серым цветом обозначен фибриновый сгусток (твёрдая фаза), окружённый плазмой крови (жидкая фаза). Стрелками показаны биохимические превращения, основанные на протеолитическом расщеплении субстратов. Т-образные символы указывают на ингибиторные эффекты. Lys-фибрин – С-концевые остатки лизина на фибрине, к которым избирательно прикрепляются молекулы плазминогена (Plg) и плазмина (Pn). Plg связан с фибрином или растворён в плазме. Pn образуется из Plg либо на фибрине под действием тканевого активатора Plg (t-PA), либо в плазме под действием двухцепочечного активатора Plg урокиназного типа (tcu-PA). Pn расщепляет фибрин и фибриноген, активирует неактивный одноцепочечный активатор Plg урокиназного типа и активируемый тромбином ингибитор фибринолиза (не показано).

Наиболее важные реакции фибринолиза и их регуляция представлены на рис. 1.

Фибринолиз обычно начинается с превращения Plg в Pn под действием тканевого активатора Plg (t-PA) и активатора Plg урокиназного типа (u-PA), которое происходит преимущественно на поверхности фибриновых волокон, после чего образовавшийся Pn расщепляет фибрин. Прикрепление Plg и t-PA к фибриновому сгустку опосредуется свободными С-концевыми остатками лизина на частично расщеплённом фибрине, а также специфическими лизин-связывающими участками в молекулах Plg и t-PA. Большая часть активного Pn образуется на фибрине после формирования тройного комплекса фибрин/t-PA/Plg. Поскольку Pn расщепляет в фибрине пептидные связи, образованные остатками лизина, то в процессе фибринолиза образуются новые С-концевые остатки лизина, которые служат для связывания дополнительных молекул Plg и t-PA, тем самым ускоряя и усиливая процесс образования Pn и расщепления фибрина по механизму положительной обратной связи. В результате вся полимерная фибриновая сеть распадается до растворимых фрагментов фибрина (FDP), которые выводятся из кровотока.

Наряду с фибринолитиками в крови есть вещества, которые прямо или косвенно ослабляют действие фибринолитических ферментов, такие как ингибитор активатора Plg 1 (PAI-1), подавляющий t-PA и u-PA, а также α_2 -антиплазмин (α_2 -AP), который непосредственно ингибирует Pn (см. рис. 1). Эти и другие компоненты фибри-

нолитической системы, включая её регуляторы, кратко охарактеризованы ниже.

Компоненты фибринолитической системы

Plg и Pn. Plg, неактивный предшественник Pn, содержится в крови в концентрации около 0,2 мг/мл [6]. Исходный Plg называется Glu-Plg, потому что на N-конце он содержит остаток глутаминовой кислоты. Молекула Glu-Plg состоит из трёх частей: N-концевого «преактивационного» пептида, пяти гомологичных доменов, называемых кринглами (K1-K5), и каталитического домена, обладающего собственно протеолитической активностью. Кринглы (названные по структурному сходству со скандинавским кренделем – kringle) обеспечивают связывание Plg с фибрином, а также с кофакторами и клеточными рецепторами. Превращение неактивного Plg в протеолитически активный Pn заключается в расщеплении пептидной связи Arg561-Val1562, катализируемом активаторами Plg. Одновременно с этим новообразованный Pn расщепляет несколько пептидных связей в исходном Plg, что приводит к образованию укороченной формы Plg, обозначаемой Lys-Plg, с остатком лизина на N-конце молекулы. Превращение Glu-Plg в Lys-Plg – ещё один механизм положительной обратной связи, так как Lys-Plg лучше связывается с фибрином и превращается в Pn быстрее, чем Glu-Plg [17].

Активаторы Plg. Способностью активировать Plg обладают сериновые протеазы t-PA и u-PA, а

также бактериальные белки стрептокиназа (SK) и стафилокиназа (SAK), которые приобретают активность только после образования комплекса с Ptg или Pn. t-PA и SAK связываются с фибрином и таким образом избегают быстрой инактивации, тогда как SK и u-PA не связываются с фибрином и могут активировать Ptg как в циркулирующей крови, так и на поверхности сгустка, но сами быстро инактивируются.

Физиологически самым важным является t-PA, циркулирующий в крови в концентрации около 5 нг/мл [6]. Одноцепочечный t-PA (scf-PA) расщепляется и превращается в более активный двухцепочечный фермент (tct-PA) под действием Pn, но исходный scf-PA сам по себе способен активировать Ptg. Обе формы активатора, scf-PA и tct-PA, образуют тройной комплекс с фибрином и Ptg, катализируя превращение Ptg в Pn путём расщепления единственной связи Arg561-Val562.

u-PA находится в крови в концентрации 2–4 нг/мл [11], он обнаруживается также в моче. Неактивная одноцепочечная форма белка (pro-u-PA или scu-PA) превращается в активный двухцепочечный фермент (tscu-PA) под действием Pn и ряда других протеаз. tscu-PA активирует как циркулирующий, так и связанный с фибрином Ptg, одинаково быстро расщепляя пептидную связь Arg561-Val562 [14].

SK продуцируется штаммами β -гемолитического стрептококка. В отличие от t-PA и u-PA, обладающих протеолитической активностью, SK — не фермент, однако этот белок способен активировать Ptg неферментативно путём изменения его конформации. Таким образом, комплекс SK-Ptg превращается в комплекс SK-Pn, причём оба одинаково эффективно активируют Ptg.

SAK продуцируется штаммом *Staphylococcus aureus* и так же, как SK, не обладает ферментативной активностью, но образует на поверхности фибрина комплекс со следовыми количествами Pn, который способен активировать Ptg [29].

Модуляторы фибринолиза. Эффективность фибринолиза зависит не только от активности ферментов, но и от свойств фибринового сгустка, таких как полнота поперечной сшивки под действием фактора XIIIa, плотность и толщина волокон, их разветвлённость, размер пор и т.д. [46]. Скорость фибринолиза существенно замедляется при наличии в составе сгустка или тромба тромбоцитарных агрегатов и после ретракции кровяного сгустка [10]. Механическая деформация фибрина тоже существенно тормозит фибринолиз [44]. Зависимость скорости фибринолиза от структуры и свойств сгустка или тромба определяется физическими факторами, такими как проницаемость для фибринолитических ферментов, площадь поверхности фибриновых волокон, скорость адсорбции и десорбции белков и др. [47].

Ферментативная фибринолитическая активность регулируется двумя путями: либо действием прямых ингибиторов, либо нарушением

связывания ферментов с субстратом. Примером непрямого ингибитора служит карбоксипептидаза TAFIa (thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor — активируемый тромбином ингибитор фибринолиза), которая эффективно подавляет фибринолиз путём отщепления C-концевых остатков лизина с поверхности фибрина, лишая Ptg и t-PA участков связывания. PAI-1 — основной ингибитор u-PA и t-PA, который относится к семейству серпинов (serpin — serine protease inhibitor) [42]. Его концентрация в плазме крови сравнительно невелика, всего порядка 0,4 нМ [13], но в богатых тромбоцитами сгустках локальная концентрация PAI-1 может быть высокой, поскольку он синтезируется в тромбоцитах и накапливается в зоне повреждения тканей, предотвращая преждевременное рассасывание свежееобразованного гемостатического сгустка.

α_2 -AP, который ещё называют α_2 -ингибитором Pn, — серпин, являющийся прямым ингибитором Pn. В крови его довольно много, около 1 мкг/мл [8], он образует стабильные неактивные плазмин-антиплазминовые комплексы Pn- α_2 -AP, которые могут прикрепляться к фибрину и конкурировать с Ptg за связывание с C-концевым лизином. Lp(a) — липопротеин, по составу похожий на липопротеины низкой плотности. Его апопротеин является структурным аналогом Ptg, поэтому подавляет связывание Ptg с фибрином как конкурентный ингибитор, тем самым тормозя фибринолиз. Некоторую роль в подавлении фибринолитических ферментов играет α_2 -макроглобулин, который при определённых условиях может связываться с растворёнными в крови молекулами Pn и активаторов Ptg, снижая их активность.

ПАТОЛОГИЧЕСКИЙ ФИБРИНОЛИЗ

Процесс фибринолиза — важный защитный механизм реканализации сосудов. Однако *in vivo* он может быть избыточным (гиперфибринолиз) или недостаточным (гипофибринолиз), усугубляя кровотечение или тромбоз и тем самым осложняя многие патологические состояния различной этиологии (рис. 2).

Гиперфибринолиз

Повышенную активацию фибринолитической системы, которая вызывает и/или усиливает кровоточивость, условно можно разделить на первичный и вторичный гиперфибринолиз (или первичный и вторичный фибринолиз). Термин «первичный (гипер)фибринолиз» подразумевает избыточную фибринолитическую активность, которая развивается либо без всяких признаков, либо с минимальными проявлениями гиперкоагуляции или тромбоза. Поскольку первичный фибринолиз развивается в отсутствие фибрина и сопровождается расщеплением фибриногена, его ещё называют «первичный фибриногенолиз». «Вторичный (гипер)фибринолиз» обозначает

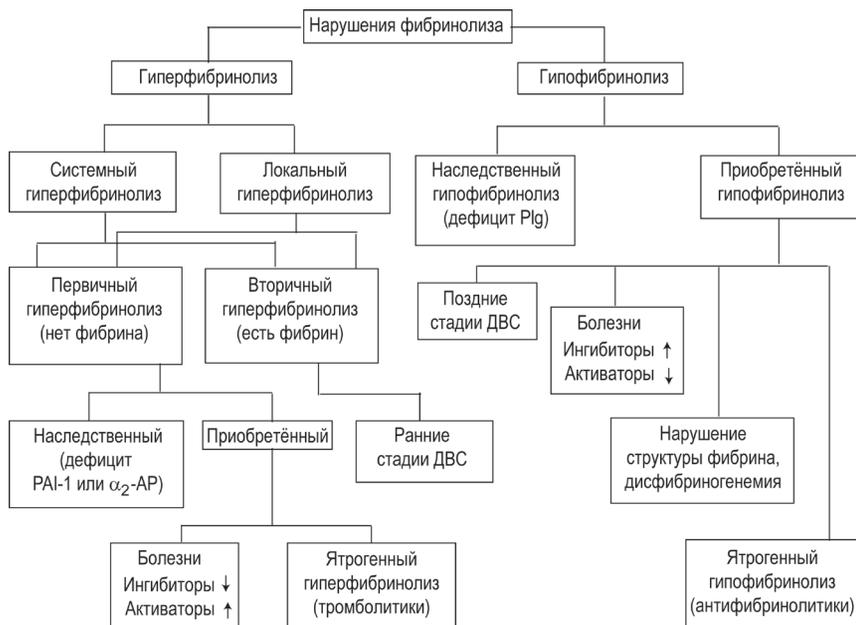


Рис. 2. Патогенетическая классификация основных нарушений фибринолиза; Plg – плазминоген; ДВС – диссеминированное внутрисосудистое свертывание; PAI-1 – ингибитор активатора Plg I; α_2 -AP – α_2 -антиплазмин.

усиленную реакцию фибринолитической системы на внутрисосудистое образование тромбина или отложение фибрина.

Первичный гиперфибринолиз. Первичный гиперфибринолиз может быть наследственным или приобретенным. Наследственный гиперфибринолиз встречается редко и обусловлен врожденным дефицитом α_2 -AP [7] или PAI-1 [23]. Как правило, первичный гиперфибринолиз бывает приобретенным, однако его механизмы не вполне ясны и во многом определяются патогенезом основного заболевания. Гиперфибринолиз сопутствует хроническим заболеваниям печени, и его частота прямо коррелирует с тяжестью заболевания [4]. В терминальной стадии цирроза печени, которая часто сопровождается кровоточивостью, фибринолитическая система активирована за счёт усиленного высвобождения t-PA из эндотелиальных клеток и нарушения его печёночного клиренса, снижения активности TAFIa, подавления синтеза α_2 -AP и PAI-1 [16, 24, 45]. При пересадке печени фоновый гиперфибринолиз, сопровождающий хроническое заболевание печени, ещё более усиливается за счёт высокой концентрации t-PA, который высвобождается из эндотелия трансплантата в результате гипоксии и ацидоза [36]. Другие хирургические вмешательства, такие как аортокоронарное шунтирование, тоже могут вызывать выброс t-PA и гиперфибринолиз [43]. Тяжёлая травма иногда может сопровождаться выраженным первичным гиперфибринолизом, который обуславливает кровотечение [24, 35]. Однако при обширном повреждении тканей более вероятно развитие скоротечного синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС) с последующим вторичным гиперфибри-

нолизом [21]. Опасные для жизни кровотечения при остром промиелоцитарном лейкозе традиционно объясняли вторичным гиперфибринолизом, ассоциированным с ДВС-синдромом. Однако оказалось, что лейкемические клетки экспрессируют много аннексина II – белка с высоким сродством к Plg и t-PA, являющегося кофактором активации Plg. Этот механизм обуславливает усиленное образование активного Pn, локализованного на клеточной поверхности и потому защищённого от ингибиторов, который может вызывать и усугублять гиперфибринолиз независимо от ДВС [40]. У пациентов с аденомой предстательной железы, которые перенесли аденоэктомию, послеоперационное кровотечение связано с локальным повышением фибринолитической активности за счёт u-PA, который в большом количестве вырабатывается клетками простаты [33]. При раке предстательной железы послеоперационная кровоточивость сочетается с повышенным уровнем u-PA в крови [26]. Системный и локальный первичный гиперфибринолиз вносит существенный вклад в менорагии различной этиологии, которые поддаются лечению антифибринолитическими препаратами [18].

Вторичный гиперфибринолиз. В подавляющем большинстве случаев гиперфибринолиз развивается в ответ на внутрисосудистую активацию системы свертывания крови и образование фибрина. Клиническим признаком вторичного гиперфибринолиза бывает кровотечение, которое развивается спустя какое-то время после первичного гемостаза или тромбоза. Однако чаще всего гиперкоагуляция и гиперфибринолиз развиваются одновременно, что существенно затрудняет дифференциацию между первичным и вторич-

ным гиперфибринолизом. Степень внутрисосудистой активации системы свёртывания крови варьирует от субклинической гиперкоагуляции до выраженного тромбоза. Соответственно компенсаторная фибринолитическая реакция пропорциональна обширности отложения фибрина в сосудистом русле. Локальный тромбоз обычно не оказывает существенного влияния на общий фибринолитический потенциал крови, тогда как выраженный системный гиперфибринолиз сопровождается ранние стадии ДВС-синдрома, который характеризуется обширными отложениями фибрина, вызывающими закупорку микрососудов, нарушение кровоснабжения многих тканей и полиорганную недостаточность. ДВС-синдром — патологическое состояние с высокой летальностью, осложняющее течение разных заболеваний, среди которых наиболее частыми являются тяжёлые инфекции, травма, ожоги, злокачественные опухоли и др. [27, 28, 30, 39].

Массивное внутрисосудистое образование тромбина при ДВС-синдроме запускается по внешнему пути свёртывания крови, то есть тканевым фактором. Источник тканевого фактора и площадь его контакта с кровью зависят от обширности повреждения тканей и степени экспрессии тканевого фактора клетками, такими как моноциты и сосудистый эндотелий, в ответ на цитокины и другие патологические стимулы. Вдобавок к мощной прокоагулянтной активности, индуцированной тканевым фактором, все основные антикоагулянты, такие как антитромбин III, система протеина С, ингибитор пути тканевого фактора, оказываются истощёнными из-за потребления, сниженного синтеза и протеолитического разрушения. Все эти процессы усугубляют обширную закупорку капиллярного русла, приводящую к прогрессирующей дисфункции органов, прежде всего органов с наиболее развитой микроциркуляцией. Продолжающаяся массивная и диффузная активация системы свёртывания крови ведёт к истощению прокоагулянтов и тромбоцитов, которое вызывает тяжёлое кровотечение, известное как коагулопатия потребления. Гиперфибринолиз усугубляет кровоточивость при ДВС путём расщепления фибрина и фибриногена с образованием продуктов их деградации (FDP — от англ. fibrin degradation products), обладающих выраженными антикоагулянтными и противотромбоцитарными свойствами. FDP представляют собой фрагменты молекул фибрин(оген)а с неполным набором связывающих центров, которые конкурентным путём ингибируют полимеризацию фибрина и опосредованную фибрин(оген)ом адгезию и агрегацию тромбоцитов. Фибринолитический потенциал при ДВС определяется главным образом относительной концентрацией в крови t-PA и PAI-1, причём содержание обоих белков существенно возрастает вследствие усиленной секреции и высвобождения из активированных и/или разрушенных клеток сосудистого эндотелия и тромбоцитов. После проходящей гипер-

фибринолитической реакции фибринолитическая система при ДВС-синдроме истощается, и наступает гипофибринолиз, который усугубляет отложение фибрина, если условия для внутрисосудистого свёртывания крови сохраняются.

Лабораторная диагностика гиперфибринолиза. Лабораторную диагностику нарушений фибринолитической системы проводят в комбинации с исследованием про- и антикоагулянтов, а также тромбоцитов. Лабораторные тесты помогают установить причину кровоточивости и подтвердить или исключить наследственный гиперфибринолиз, обусловленный дефицитом α_2 -AP или PAI-1. Несмотря на трудности дифференциальной диагностики первичного гиперфибринолиза и ДВС-синдрома, это исключительно важно для выбора правильного лечения. При выраженной гиперкоагуляции и тромбозе определение фибринолитического потенциала наряду с клинической картиной может помочь принять решение о необходимости тромболитической терапии.

Современный арсенал лабораторных методов изучения фибринолитической системы включает следующие наиболее распространённые тесты: время лизиса эуглобулиновых сгустков и его модификации, тромбозагострографию и тромбозагострометрию, D-димер, концентрацию фибриногена, FDP, активность α_2 -AP, PAI-1, Plg, t-PA, u-PA (последние четыре и по активности, и по уровню антигена), плазмин-антиплазминовые комплексы Pn- α_2 -AP и TAFI (антиген). Некоторые из этих тестов являются рутинными, тогда как остальные, прежде всего определение молекулярных маркёров, применяют в основном для исследовательских целей, а их интерпретация, диагностическое и прогностическое значение неоднозначны [19].

Для диагностики гиперфибринолиза прежде всего используют время лизиса эуглобулиновых сгустков и тромбозагострографию, так как они выявляют повышенную активацию Plg и последующее ускоренное растворение фибринового сгустка. Несмотря на большое распространение, ценность тромбозагострографии и тромбозагострометрии остаётся предметом дискуссий [5].

Тест на FDP определяет концентрацию продуктов распада как фибриногена, так и фибрина и поэтому не может дифференцировать первичный и вторичный фибринолиз. В отличие от других FDP, D-димер образуется только из поперечно сшитого фибрина, поэтому высокий уровень D-димера на фоне низкого уровня фибриногена и тромбоцитов в сочетании с увеличенным парциальным тромбoplastиновым временем указывает на вторичный фибринолиз как следствие ДВС-синдрома. Для более достоверной диагностики ДВС необходимы исследования в динамике.

Первичный фибрин(оген)олиз вероятен, когда кровоточивость сочетается с гипофибриногемией без повышения или с непропорционально малым повышением уровня D-димера в комби-

нации с нормальным или субнормальным содержанием тромбоцитов. Другие лабораторные признаки как первичного, так и вторичного гиперфибринолиза включают повышение в крови уровня t-PA одновременно с уменьшением содержания Ptg и повышением количества плазмин-антиплазминовых комплексов Pn- α_2 -AP.

Лечение гиперфибринолиза. Если доказано, что кровотечение вызвано гиперфибринолизом, оправдано применение антифибринолитических средств. Наиболее часто для подавления фибринолитической активности используют аналоги лизина — ϵ -аминокрапроновую и транэзамовую кислоты. Оба вещества связываются с Ptg и блокируют взаимодействие Ptg и Pn с фибрином, предупреждая активацию Ptg и растворение фибринового сгустка.

До недавнего времени на протяжении многих лет в качестве антиплазминового агента широко применяли апротинин, чаще всего в ходе оперативных вмешательств, особенно при трансплантации печени и операциях на сердце. Однако в 2008 г. было показано, что в группе пациентов, перенёсших аортокоронарное шунтирование с применением апротинина, летальность оказалась выше, чем в группе без апротинина [15], после чего апротинин был изъят из обращения во многих странах (но не в России). Тем не менее, проведённый недавно ретроспективный анализ подтвердил эффективность апротинина при трансплантации печени [41], а в 2012 г. Европейское агентство лекарственных средств рекомендовало отменить запрет на применение апротинина в странах Евросоюза на том основании, что при аортокоронарном шунтировании предотвращение кровопотери с помощью апротинина перевешивает риск его применения. Этот вывод подтверждается новыми клиническими данными [2, 22]. Следует отметить, что уменьшение кровопотери при использовании антифибринолитиков всегда сопряжено с потенциальным риском гипофибринолиза и тромботических осложнений, особенно если антифибринолитические препараты назначают параллельно с заместительной гемотрансфузией. Понятно, что стратегическим приоритетом в лечении любых нарушений гемостаза является устранение их изначальной причины.

Гипофибринолиз

Уменьшение фибринолитической активности и связанные с этим тромботические состояния, или тромбофилия, развиваются при многих патологических состояниях, таких как сахарный диабет, ишемическая болезнь сердца, ишемический инсульт, тромбоз глубоких вен и тромбоэмболия лёгочной артерии, преэклампсия, антифосфолипидный синдром и т.д. Основные механизмы нарушений фибринолиза включают наследственный дефицит и дисфункцию Ptg, повышенный уровень PAI-1 и α_2 -AP, нарушение выброса t-PA или u-PA [37,38], а также низкий уровень TAFIa [32]. Кроме того, задержка

фибринолиза коррелирует с аномальной структурой и повышенной механической прочностью фибриновых сгустков [9]. Глубокое подавление фибринолиза происходит на поздних стадиях ДВС-синдрома, когда на пике активации системы свёртывания крови фибринолиз подавлен из-за стойкого повышения уровня PAI-1 [12]. Когда ДВС-синдром развивается при сепсисе, фибринолиз угнетён за счёт образования комплексов Pn- α_2 -AP и блокады активаторов Ptg под действием PAI-1, который высвобождается из эндотелиальных клеток и тромбоцитов в ответ на стимуляцию эндотоксином и фактором некроза опухоли альфа [20]. Подавление фибринолиза при сепсисе усугубляется также индуцированной тромбином системной активацией TAFI [48]. Стойкое повышение уровня PAI-1 у пациентов с тяжёлым сепсисом — плохой прогностический признак [34]. Инфузии экзогенных фибринолитических препаратов могут быть единственным способом преодолеть гипо- и афибринолиз и восстановить способность растворять обтурирующие тромбы, разумеется, в сочетании с другими мерами, направленными на устранение причины этих нарушений.

ТРОМБОЛИТИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ

Лечебный тромболитизис, или тромболитическая терапия, — растворение тромбов и реперфузия сосудов путём введения в кровотоки экзогенных активаторов Ptg. Чаще всего тромболитическая терапия применяется при инфаркте миокарда и ишемическом инсульте [1, 25]. Ниже описаны тромболитические препараты, которые применяются в мировой практике или находятся на стадии испытаний.

Препарат рекомбинантного t-PA (rt-PA) известен как *альтеплаза* (alteplase) и по своим свойствам не отличим от природного t-PA [3]. При лечении этим препаратом его эффективная концентрация в плазме крови достигает 4 мкг/мл, что приблизительно в 800 раз выше физиологического уровня. *Ретеплаза* (reteplase) — мутант rt-PA, способный также активировать Ptg, но его связывание с фибрином слабее приблизительно в 5 раз. *Тенектеплаза* (tenecteplase) — мутант rt-PA с удлинённым сроком циркуляции и повышенной устойчивостью к ингибирующему действию PAI-1, что делает его одним из наиболее перспективных тромболитиков. *Ланотеплаза* (lanoteplase) — вариант rt-PA с удлинённым периодом полувыведения по сравнению с альтеплазой. *Монтеплаза* (monteplase) и *рамитеплаза* (ramiteplase) — сравнительно новые производные t-PA с увеличенным сроком циркуляции и выраженным родством к фибрину. *Стрентокиназа* была первым тромболитическим препаратом, который до сих пор широко применяется, прежде всего ввиду своей дешевизны, однако это средство нередко вызывает аллергию, артериальную гипотензию и кровоточивость. *Анистреплаза* (anistreplase) представляет собой комплекс Ptg с ацилированной SK, который ак-

тивируется только *in vivo* и дольше циркулирует в кровотоке. Урокиназа (urokinase) в активной двухцепочечной форме (tcu-PA) используется наряду с неактивной одноцепочечной проурокиназой (scu-PA) под названием саруплаза (saruplase). Десмотеплаза (desmoteplase) – активатор Plg из слюны летучих мышей-вампиров с очень высоким сродством и избирательностью по отношению к фибрину. Микроплазмин, усечённый вариант Pn, проходит испытания как перспективный тромболитический препарат прямого действия. Рекомбинантная САК более избирательна к фибрину, чем rt-PA, но может вызвать иммунную реакцию. Дутеплаза (duteplase) – аналог rt-PA, который испытывали при инфаркте миокарда без явных преимуществ перед другими тромболитиками.

Недостатки тромболитической терапии – риск кровоточивости (особенно внутричерепной), а также частые случаи неэффективного тромболитизиса или реоклюзия, обычно обусловленные гипоперфузией сосудов, низкой проницаемостью зрелых тромбов, претерпевших ретракцию, и быстрой инактивацией фибринолитических ферментов в кровотоке. Чтобы уменьшить опасность и улучшить результаты инфузионной тромболитической терапии, предпочтительно подводить препарат непосредственно к месту закупорки сосуда. Наряду с традиционными методами локального тромболитизиса, такими как интраартериальная катетеризация, разрабатывают препараты с адресной доставкой фибринолитиков, использующие векторы с высокой избирательностью к фибрину (иммунные конъюгаты, покрытые фибринолитиками эритроциты или наночастицы и др.) [31]. Многообещающее направление профилактики тромбозов и тромболитической терапии – использование веществ, которые стимулируют выброс эндогенного тканевого активатора Plg, таких как производные вазопрессина (десмопрессин) и ацилированные дипептиды.

Автор благодарит профессора Ляйли Диярову Зубаирову за внимательное прочтение рукописи и ценные советы.

ЛИТЕРАТУРА

- Balami J.S., Chen R., Sutherland B.A., Buchan A.M. Thrombolytic agents for acute ischaemic stroke treatment: the past, present and future // *CNS Neurol. Disord. Drug Targets.* – 2013. – Vol. 12. – P. 145-154.
- Beckerman Z., Shopen Y., Alon H. et al. Coronary artery bypass grafting after aprotinin: are we doing better? // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 2013. – Vol. 145. – P. 243-248.
- Bell W.R. Present-day thrombolytic therapy: therapeutic agents-pharmacokinetics and pharmacodynamics // *Rev. Cardiovasc. Med.* – 2002. – Vol. 3, suppl. 2. – P. 34-44.
- Bennani-Baiti N., Daw H.A. Primary hyperfibrinolysis in liver disease: a critical review // *Clin. Adv. Hematol. Oncol.* – 2011. – Vol. 9. – P. 250-252.
- Bluth M.H., Kashuk J.L. Whole blood thromboelastometry: another Knight at the Roundtable? // *Crit. Care.* – 2011. – Vol. 15. – P. 1021.
- Booth N.A., Bennett B. Fibrinolysis and thrombosis // *Baillieres Clin. Haematol.* – 1994. – Vol. 7. – P. 559-572.
- Carpenter S.L., Mathew P. Alpha2-antiplasmin and its deficiency: fibrinolysis out of balance // *Haemophilia.* – 2008. – Vol. 14. – P. 1250-1254.
- Collen D., Wiman B. Turnover of antiplasmin, the fast-acting plasmin inhibitor of plasma // *Blood.* – 1979. – Vol. 53. – P. 313-324.
- Collet J.P., Allali Y., Lesty C. et al. Altered fibrin architecture is associated with hypofibrinolysis and premature coronary atherothrombosis // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2006. – Vol. 26. – P. 2567-2573.
- Collet J.P., Montalescot G., Lesty C., Weisel J.W. A structural and dynamic investigation of the facilitating effect of glycoprotein IIb/IIIa inhibitors in dissolving platelet-rich clots // *Circ. Res.* – 2002. – Vol. 90. – P. 428-434.
- Darras V., Thienpont M., Stump D.C., Collen D. Measurement of urokinase-type plasminogen activator (u-PA) with an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) based on three murine monoclonal antibodies // *Thromb. Haemost.* – 1986. – Vol. 56. – P. 411-414.
- Deitch E.A. Animal models of sepsis and shock: a review and lessons learned // *Shock.* – 1998. – Vol. 9. – P. 1-11.
- Fay W.P., Murphy J.G., Owen W.G. High concentrations of active plasminogen activator inhibitor-1 in porcine coronary artery thrombi // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 1996. – Vol. 16. – P. 1277-1284.
- Fears R. Binding of plasminogen activators to fibrin: characterization and pharmacological consequences // *Biochem. J.* – 1989. – Vol. 261. – P. 313-324.
- Fergusson D.A., Hebert P.C., Mazer C.D. et al. A comparison of aprotinin and lysine analogues in high-risk cardiac surgery // *N. Engl. J. Med.* – 2008. – Vol. 358. – P. 2319-2331.
- Ferro D., Celestini A., Violi F. Hyperfibrinolysis in liver disease // *Clin. Liver Dis.* – 2009. – Vol. 13. – P. 21-31.
- Fredenburgh J.C., Nesheim M.E. Lys-plasminogen is a significant intermediate in the activation of Glu-plasminogen during fibrinolysis *in vitro* // *J. Biol. Chem.* – 1992. – Vol. 267. – P. 26150-26156.
- Gleeson N.C. Cyclic changes in endometrial tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor type 1 in women with normal menstruation and essential menorrhagia // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1994. – Vol. 171. – P. 178-183.
- Gorog D.A. Prognostic value of plasma fibrinolysis activation markers in cardiovascular disease // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2010. – Vol. 55. – P. 2701-2709.
- Hack C.E. Fibrinolysis in disseminated intravascular coagulation // *Semin. Thromb. Hemost.* – 2001. – Vol. 27. – P. 633-638.
- Hayakawa M., Sawamura A., Gando S. et al. Disseminated intravascular coagulation at an early phase of trauma is associated with consumption coagulopathy and excessive fibrinolysis both by plasmin and neutrophil elastase // *Surgery.* – 2011. – Vol. 149. – P. 221-230.
- Howell N., Senanayake E., Freemantle N., Pagano D. Putting the record straight on aprotinin as safe and effective: results from a mixed treatment meta-analysis of trials of aprotinin // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 2013. – Vol. 145. – P. 234-240.
- Iwaki T., Tanaka A., Miyawaki Y. et al. Life-threatening hemorrhage and prolonged wound healing are remarkable phenotypes manifested by complete plasminogen activator inhibitor-1 deficiency in humans // *J. Thromb. Haemost.* – 2011. – Vol. 9. – P. 1200-1206.
- Kashuk J.L., Moore E.E., Sawyer M. et al. Primary fibrinolysis is integral in the pathogenesis of the acute

- coagulopathy of trauma // *Ann. Surg.* — 2010. — Vol. 252. — P. 434–442.
25. *Kiernan T.J., Gersh B.J.* Thrombolysis in acute myocardial infarction: current status. // *Med. Clin. North Am.* — 2007. — Vol. 91. — P. 617–637.
26. *Kohli M., Kaushal V., Mehta P.* Role of coagulation and fibrinolytic system in prostate cancer // *Semin. Thromb. Hemost.* — 2003. — Vol. 29. — P. 301–308.
27. *Levi M.* Disseminated intravascular coagulation // *Crit. Care Med.* — 2007. — Vol. 35. — P. 2191–2195.
28. *Levi M.* Disseminated intravascular coagulation: What's new? // *Crit. Care Clin.* — 2005. — Vol. 21. — P. 449–467.
29. *Lijnen H.R., Van Hoef B., De Cock F. et al.* On the mechanism of fibrin-specific plasminogen activation by staphylokinase // *J. Biol. Chem.* — 1991. — Vol. 266. — P. 11826–11832.
30. *Lippi G., Ippolito L., Cervellin G.* Disseminated intravascular coagulation in burn injury // *Semin. Thromb. Hemost.* — 2010. — Vol. 36. — P. 429–436.
31. *Lippi G., Mattiuzzi C., Favaloro E.J.* Novel and emerging therapies: thrombus-targeted fibrinolysis // *Semin. Thromb. Hemost.* — 2012. — Vol. 39. — P. 48–58.
32. *Meltzer M.E., Doggen C.J., de Groot P.G. et al.* Low thrombin activatable fibrinolysis inhibitor activity levels are associated with an increased risk of a first myocardial infarction in men // *Haematologica.* — 2009. — Vol. 94. — P. 811–818.
33. *Nielsen J.D., Gram J., Holm-Nielsen A. et al.* Post-operative blood loss after transurethral prostatectomy is dependent on in situ fibrinolysis // *Br. J. Urol.* — 1997. — Vol. 80. — P. 889–893.
34. *Raaphorst J., Johan Groeneveld A.B., Bossink A.W., Erik Hack C.* Early inhibition of activated fibrinolysis predicts microbial infection, shock and mortality in febrile medical patients // *Thromb. Haemost.* — 2001. — Vol. 86. — P. 543–549.
35. *Raza I., Davenport R., Rourke C. et al.* The incidence and magnitude of fibrinolytic activation in trauma patients // *J. Thromb. Haemost.* — 2013. — Vol. 11. — P. 307–314.
36. *Sabate A., Dalmau A., Koo M. et al.* Coagulopathy management in liver transplantation // *Transplant. Proc.* — 2012. — Vol. 44. — P. 1523–1525.
37. *Schuster V., Hugle B., Tefs K.* Plasminogen deficiency // *J. Thromb. Haemost.* — 2007. — Vol. 5. — P. 2315–2322.
38. *Singh N.K., Gupta A., Behera D.R., Dash D.* Elevated plasminogen activator inhibitor type-1 (PAI-1) as contributing factor in pathogenesis of hypercoagulable state in antiphospholipid syndrome // *Rheumatol. Int.* — 2013. — Vol. 33. — P. 2331–2336.
39. *Slofstra S.H., Spek C.A., Ten Cate H.* Disseminated intravascular coagulation // *Hematol. J.* — 2003. — Vol. 4. — P. 295–302.
40. *Stein E., McMahon B., Kwaan H. et al.* The coagulopathy of acute promyelocytic leukaemia revisited // *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* — 2009. — Vol. 22. — P. 153–163.
41. *Trzebicki J., Kosieradzki M., Flakiewicz E. et al.* Detrimental effect of aprotinin ban on amount of blood loss during liver transplantation: single-center experience // *Transplant. Proc.* — 2011. — Vol. 43. — P. 1725–1727.
42. *Van De Craen B., Declercq P.J., Gils A.* The biochemistry, physiology and pathological roles of PAI-1 and the requirements for PAI-1 inhibition in vivo // *Thromb. Res.* — 2012. — Vol. 130. — P. 576–585.
43. *Vanek T., Jares M., Snircova J., Maly M.* Fibrinolysis in coronary artery surgery: detection by thromboelastography // *Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg.* — 2007. — Vol. 6. — P. 700–704.
44. *Varju I., Sotonyi P., Machovich R. et al.* Hindered dissolution of fibrin formed under mechanical stress // *J. Thromb. Haemost.* — 2011. — Vol. 9. — P. 979–986.
45. *Violi F., Ferro D.* Clotting activation and hyperfibrinolysis in cirrhosis: implication for bleeding and thrombosis // *Semin. Thromb. Hemost.* — 2013. — DOI: 10.1055/s0033-133444.
46. *Weisel J.W.* Structure of fibrin: impact on clot stability // *J. Thromb. Haemost.* — 2007. — Vol. 5, Suppl. 1. — P. 116–124.
47. *Weisel J.W., Litvinov R.I.* The biochemical and physical process of fibrinolysis and effects of clot structure and stability on the lysis rate // *Cardiovasc. Hematol. Agents Med. Chem.* — 2008. — Vol. 6. — P. 161–180.
48. *Zeerleder S., Schroeder V., Hack C.E. et al.* TAFI and PAI-1 levels in human sepsis // *Thromb. Res.* — 2006. — Vol. 118. — P. 205–212.

УДК 612.821: 613.867: 616-072.85-008.853-053.7: 616.151.5

НО 18

ВЛИЯНИЕ ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТРЕССА НА СОДЕРЖАНИЕ ЛЕЙКОЦИТОВ И ТРОМБОДИНАМИКУ У ЗДОРОВЫХ ДОБРОВОЛЬЦЕВ

Андрей Петрович Ложкин*, Юрий Вячеславович Чернохвостов,

Владимир Георгиевич Двоеносов, Михаил Валентинович Панасюк, Ренад Ибрагимович Жданов

Казанский (Приволжский) Федеральный университет

Реферат

Цель. Охарактеризовать влияние психоэмоционального стресса на содержание лейкоцитов и параметры тромбообразования.

Методы. У 51 студента (26 мужчин и 25 женщин) проводили подсчёт числа лимфоцитов, гранулоцитов, моноцитов в крови и определяли параметры тромбообразования в период экзаменационной сессии. Для анализа устойчивости к стрессу и предрасположенности к нему проводили психологическое тестирование.

Результаты. Установлено, что количество моноцитов выше в группе мужчин, подвергшихся стрессу, по сравнению с контрольной группой. В то же время в группе женщин, подвергшихся стрессу, обнаружен повышенный процент гранулоцитов и пониженная доля лимфоцитов в сравнении с контрольной группой. Установлены гендерные различия в стационарной скорости образования тромба, как в группах стресса, так и в контроле. Группы обоих полов показали взаимосвязь между психоэмоциональным стрессом и параметрами гемостаза, причём эти различия оказались выше в группе испытуемых мужского пола.

Адрес для переписки: lozhkinandrey@gmail.com