

Ю.Э. Доброхотова, А.А. Щеголев,
С.А. Папоян, Е.И. Боровкова

ВЕНОЗНЫЕ ТРОМБОЭМБОЛИЧЕСКИЕ ОСЛОЖНЕНИЯ В АКУШЕРСТВЕ



Москва
ИЗДАТЕЛЬСКАЯ ГРУППА
«ГЭОТАР-Медиа»
2017

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ФАКТОРЫ ТРОМБОФИЛИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ

2.1. ФИЗИОЛОГИЯ ТРОМБООБРАЗОВАНИЯ. ОСОБЕННОСТИ ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ

Система гемостаза — это система регуляции агрегатного состояния крови, управляемая сложными нейрогуморальными механизмами.

Основные звенья гемостаза

- Сосудисто-тромбоцитарное звено (первичный гемостаз).
- Прокоагулянтное (плазменное) звено.
- Фибринолитическое звено.
- Звено ингибиторов свертывания.

Сосудисто-тромбоцитарный гемостаз — быстрый механизм свертывания, состоит из следующих этапов:

- воздействие повреждающих факторов (циркулирующие иммунные комплексы, токсины, инфекции и др.);
- высвобождение из эндотелия сосудов факторов адгезии [фактор Виллебранда, аденозиндифосфат (АДФ), коллаген, эластин];
- адгезия тромбоцитов (при участии ионов кальция);
- высвобождение из тромбоцитов факторов агрегации (тромбомодулин, адреналин, серотонин);
- агрегация тромбоцитов посредством синтеза простагландинов (тромбоксан A_2 и простаглицлин).

ПЛАЗМЕННЫЙ ГЕМОСТАЗ — ПРОКОАГУЛЯНТНОЕ ЗВЕНУ

Кровь в жидком состоянии поддерживается в силу многих причин. Слой эндотелиальных клеток, выстилающих изнутри кровеносный сосуд, имеет отрицательный заряд и содержит на своей поверхности химические соединения, препятствующие процессу свертывания крови. Постоянный ток крови не позволяет образовываться сгустку в силу чисто механических причин, элиминируя белковые молекулы и разбавляя форменные элементы крови.

При определенных условиях развивается локальный тромбоз. Он может начинаться либо с повреждения внутренней оболочки сосуда, либо при выделении из тканей, подвергшихся травме или другому внешнему воздействию, тканевого тромбопластина.

Свертывающая система крови — это совокупность взаимосвязанных реакций, протекающих при участии протеолитических ферментов. На каждой стадии данного биологического каскада профермент (предшественник, зимоген) превращается в соответствующую сериновую протеазу, которая катализирует превращение следующего профермента в сериновую протеазу. Сериновые протеазы гидролизуют пептидные связи в активном центре, основу которого составляет аминокислота серин. Тринадцать таких белков (факторы свертывания крови) составляют систему свертывания. Из них семь активируются до сериновых протеаз (факторы XII, XI, IX, X, II, VII и прекалликреин), три являются кофакторами этих реакций (факторы V, VIII и кининоген с высокой молекулярной массой), один — кофактор/рецептор (тканевый фактор, фактор III), еще один — трансглутаминаза (фактор XIII) и, наконец, фибриноген (фактор I), являющийся субстратом для образования фибрина, конечного продукта каскада свертывания крови.

Для достижения гемостаза в результате процесса свертывания крови необходимо сосредоточение циркулирующих факторов свертывания крови в месте повреждения. Это осуществляется за счет реакций свертывания крови, происходящих на обнаженном коллагене, тканевом факторе и клеточных мембранах, включая фосфолипиды тромбоцитарной мембраны. Амплификация местной свертывающей реакции — мощный механизм, необходимый для образования тромбина. Подсчитано, что одна молекула активированного фактора XII может генерировать 1 млн молекул тромбина. Основная функция тромбина — превращать фибриноген в фибрин. Фибрин удерживает агрегаты тромбоцитов в месте сосудистой травмы и изменяет нестабильную тромбоцитарную пробку (первичную) в стабильную гемостатическую.

ПУТИ АКТИВАЦИИ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ

Механизмы активации свертывания крови разделяют на внешние и внутренние. Такое деление искусственно, поскольку оно не имеет места *in vivo*, но данный подход облегчает интерпретацию лабораторных тестов *in vitro*.

Номенклатура факторов свертывания:

- I — фибриноген;
- I — протромбин;
- IIa — тромбин;
- III — тканевый тромбопластин;
- IV — ионы Ca^{2+} ;
- V — акселерирующий фактор (проакцелерин);
- VI — активатор фактора V;
- VII — проконвертин;
- VIII — глобулин A;
- IX — фактор В (Кристмаса);
- X — протромбиназа (Стюарта—Прауэра);
- XI — плазменный предшественник тромбопластина;

- XII — фактор Хагемана;
- XIII — фибриназа.

Прокоагулянтное (плазменное) звено — многоэтапный ферментный каскад, заканчивающийся образованием фибрина.

Первый путь свертывания крови называется внутренним, второй — внешним. В первом случае нарушается целостность эндотелия с обнажением глубже расположенного субэндотелиального слоя с коллагеновыми волокнами, который уже не обладает антитромбогенными свойствами. Сразу же к данному поврежденному участку прилипают тромбоциты, которые затем переходят в активное состояние, начинается взаимодействие стенки сосуда с факторами свертывания крови и перевод их в активированное состояние. Это и есть начало каскада свертывания крови, при котором каждая последовательно развивающаяся химическая реакция ведет к началу другой степени коагуляции крови. Число последовательно активированных молекул нарастает как снежный ком.

СТАДИИ КОАГУЛЯЦИИ

Стадия I — образование протромбиназы.

- Внешний путь:
 - быстрый;
 - длится 7–20 с;
 - отражают тесты «протромбиновое время» (ПТВ) и «тромбиновое время» (ТВ);
 - последовательная активация: III + VII + IV + V + X = IIIa.
- Внутренний путь:
 - медленный;
 - длится 5–6 мин;
 - отражает тест АЧТВ (активированное частичное тромбопластиновое время);
 - последовательная активация: калликреин + XIIa + XI + IX + VIII + IV + V + X = IIIa.

Стадия II — завершение превращения протромбина в тромбин:

- последовательная активация: II + IIIa + IV + V + X = IIIa.

Стадия III — цепь реакций по превращению белка плазмы фибриногена в фибрин.

Фибринолитическое звено состоит из пламиногена, его активаторов и ингибиторов.

Основные этапы следующие:

- переход пламиногена в плазмин активируется IIIa, трипсином, урокиназой и стрептолизином;
- плазмин разрушает фибрин с образованием продуктов деградации фибриногена, растворимых комплексов мономеров фибрина (РКМФ), D-димера.

Фибриноген — белок острофазового ответа организма на различные воспалительные процессы. Его количество определяет вязкость крови, воздействует на скорость агрегации тромбоцитов. Фибриноген вначале превращается в фибринмономер, затем происходит процесс полимеризации его сначала в олиго- и затем в полимеры. Заключительная часть процесса тромбообразования — это ретракция, то есть уплотнение сгустка.

Существование способности растворять свежие тромбы позволяет бороться со многими неблагоприятными внешними факторами среды, запускающими процесс тромбообразования. Главным действующим веществом является плазмин, содержащийся в плазме в виде неактивного пламиногена. Плазмин расщепляет фибрин, то есть происходит процесс деполимеризации с образованием димеров D и E. Обнаружение в крови повышенного количества D-димера свидетельствует о происходящем в организме процессе тромбообразования и сопутствующем ему тромболизисе.

Внешний путь. Основным путем активации свертывания крови *in vivo* считается внешний путь. Компоненты

этого пути следующие: тканевый фактор, его ингибитор (ингибитор превращения тканевого фактора) и плазменный фактор VII (ФVII). Тканевый фактор представляет собой внутренний мембранный гликопротеин, присутствующий во многих клетках, которые находятся в контакте с кровью; он не поступает в кровь до тех пор, пока не образуются протеазы или не произойдет повреждение клетки *in vivo*. Тканевый фактор функционирует в качестве кофактора/рецептора, который в присутствии ионов кальция активирует фактор VII. Фактор VII представляет собой одноцепочечный гликопротеин (M_r 50 000), образуемый гепатоцитами; в крови циркулирует в виде профермента. Он содержит 10 остатков γ -карбоксиглутаминовой кислоты (Gla-домен), для биосинтеза которых требуется витамин K.

Активация фактора VII приводит к открытию (обнажению) его активного серинового центра. Это вызвано прежде всего связыванием фактора VII с тканевым фактором/ Ca^{2+} . Фактор VII может также активироваться за счет незначительного протеолитического действия других сериновых протеаз свертывания (тромбина, XIIa, IXa и Xa), а также за счет самоактивации. Комплекс тканевый фактор—VIIa— Ca^{2+} действует на два субстрата: фактор X и фактор IX, приводя к образованию тромбина.

Внутренний путь. Внутренний путь активации свертывания крови — коагуляция, инициируемая компонентами, полностью находящимися в пределах сосудистой системы. Этот путь *in vivo* существует совместно с внешним путем. К компонентам внутренней системы относят факторы XII, XI, IX, VIII, такие кофакторы, как высокомолекулярный кининоген (ВМК) и прекалликреин (ПК), а также их ингибиторы.

Инициация активации фактора X начинается, когда обнажается отрицательно заряженная поверхность

(например, коллаген) в пределах сосудистой стенки; в результате самоактивация фактора XII приводит к конформационным изменениям молекулы с раскрытием его активного серинового центра (XIIa). Наличие небольшого количества XIIa вызывает активацию его субстратов: ПК, ВМК и фактора XI. ПК и фактор XI связываются с активирующей поверхностью посредством ВМК. Без ВМК активации обоих проферментов не происходит. Связанный ВМК может расщепляться калликреином или связанным с поверхностью XIIa — активированный фактор XII — и инициировать взаимную активацию систем ПК—фактор XII. Поскольку ПК и фактор XI плазмы существуют в бимолекулярных комплексах с ВМК, это облегчает прямую поставку большого количества ПК и фактора XI к поверхности для прикрепления к ней, где активируется фактор XII. Затем связанный с поверхностью фактор XIIa расщепляет фактор XI до XIa и прекалликреин до калликреина. Для механизма взаимной активации фактора XII и прекалликреина характерна большая быстрота по сравнению с механизмом самоактивации фактора XII, что обеспечивает многократное усиление системы активации фактора XII. Образовавшийся калликреин превращает ВМК в ВМКa и брадикинин. В результате этих первых контактных реакций комплексы ВМКa—калликреин и ВМКa—XIa размещаются вблизи фактора XIIa, где начинаются активация процесса свертывания крови, фибринолиз и активация комплемента.

Калликреин в комплексе с ВМКa недостаточно тесно связан с поверхностью и выделяется в жидкую фазу, чтобы взаимодействовать с различными субстратами, включая фактор XII, плазминоген, проренин и компонент комплемента C1.

Калликреин также воздействует на фактор XIIa, отщепляя фрагмент ФXII (ФXIII), который сохраняет

активный сериновый участок, но утрачивает домен связывания. Подобное регулирование через отрицательную обратную связь с помощью калликреина выключает поверхностно-связанное свертывание. Фактор XIII в жидкой фазе может действовать как мощный активатор прекалликреина: превращать фактор VII в ФVIIa, а C1 — в активированный C1. И наоборот, фактор XIa, связанный с ВМКa, остается тесно прикрепленным к поверхности, где он пространственно приближает проферменты к фактору XIIa. С другой стороны, фактор XIa расщепляет ВМК, нарушая его кофакторную активность, в результате чего фактор XIa отделяется от зоны поверхностной активации. Фактор XIa превращает фактор IX в IXa как в жидкой фазе, так и на тромбоцитарных мембранно-связанных фосфолипидах.

Витамин К необходим для пострибосомального карбоксилирования терминальных остатков глутаминовой кислоты всех витамин-К-зависимых факторов коагуляции (X, IX, VII, II; мнемоник «1972») и двух ингибиторов факторов свертывания (С и S). Такое карбоксилирование способствует присоединению ионов кальция, что необходимо для освобождения участка, связывающего фосфолипид, и активации всех витамин-К-зависимых белков.

Несмотря на то что активация фактора IX инициируется или фактором XIa, или комплексом VIIa–ТФ (III), последний считают наиболее важным путем активации свертывания крови *in vivo*. Активированному фактору IX необходимы кальций и кофактор (ФVIII) для прикрепления к тромбоцитарному фосфолипиду и превращения фактора X в Xa. Фактор VIII действует в качестве мощного ускорителя завершающей ферментативной реакции.

Фактор VIII, который также называют антигемофильным фактором, является единственным полипептидом, синтезируемым различными тканями,

включая синусоид печени. Он кодируется большим геном (186 кб), расположенным на конце хромосомы X. Анализ комплементарного ДНК (кДНК)-фактора VIII показал наличие двух типов повторяющихся последовательностей в белке, состоящем из доменов: A1-A2-B-A3-C1-C2. Активация фактора VIII тромбином приводит к образованию тяжело- и легкоцепочечных фрагментов фактора VIII. Домены А локализованы в обоих фрагментах, а домены С — только в легкой цепи. Коагулянтная активность фактора VIII ассоциируется с доменами А и С, но не В (зона соединения), который не обладает прокоагулянтными свойствами. При молекулярном анализе фактора VIII и другого кофактора свертывания крови фактора V показано сходство этих двух молекул. Факторы VIII и V имеют общую структуру (A1-A2-B-A3-C1-C2) с гомологией между доменами А и С, чем и обусловлена коагулянтная активность обоих кофакторов. Зона В различна у факторов VIII и V, но она не связана с их функцией.

Фактор VIII циркулирует в крови в связанном виде с фактором В — большим гликопротеином, продуцируемым эндотелиальными клетками (ЭК) и мегакариоцитами. Фактор В служит внутрисосудистым белком — носителем для фактора VIII. Связывание фактора В с фактором VIII (посредством аминокислотных остатков VIII с 1649 по 1689) стабилизирует молекулу фактора VIII, увеличивает ее период существования внутри сосуда и способствует ее транспорту к месту повреждения. Однако, чтобы активированный фактор VIII мог проявить свою кофакторную активность, он должен отсоединиться от фактора В. Воздействие тромбина на комплекс ФVIII—ФВ приводит к отделению фактора VIII от несущего протеина и расщеплению на тяжелую и легкую цепи, которые важны для коагулянтной активности фактора VIII. Другая физиологическая роль комплекса ФVIII—ФВ

заключается в способности фактора В повышать концентрацию фактора VIII в месте повреждения сосуда. Поскольку циркулирующий фактор В связывается как с обнаженными субэндотелиальными тканями, так и со стимулированными тромбоцитами, он направляет фактор VIII в зону поражения, где последний необходим для ускорения превращения фактора X в Ха.

Активация фактора VIII может происходить под действием факторов Ха и IXa в присутствии фосфолипида, находящегося в форме аниона, и ионов кальция. Эта реакция протекает значительно медленнее, чем тромбинактивируемая реакция *in vitro*. Таким образом предполагают, что тромбин — основной активатор фактора VIII *in vivo*.

Общий путь. Завершение процесса активации свертывания крови называют общим путем. В этой стадии фактор Ха связан с фактором Va на фосфолипидной поверхности и в присутствии Ca^{2+} (так называемый протромбиназный комплекс) превращает протромбин (фактор II) в тромбин (фактор IIa).

Протромбин — наиболее распространенный фактор свертывания крови в плазме из всех, зависящих от витамина К. Он синтезируется гепатоцитами как препропептид. Посттрансляционные процессы модифицируют препротромбин в зрелую молекулу посредством карбоксилирования остатков глутаминовой кислоты и встраивания углеводных боковых цепей. Зрелая молекула протромбина содержит четыре домена: первые два связываются с ионами кальция и фосфолипидом третий, видимо, также соединяется с ионами кальция, а четвертый содержит активный предшественник сериновой протеазы.

Активация протромбина в тромбин может происходить различными путями. Физиологически наиболее важный путь — за счет действия протромбиназного комплекса (фактор Ха + фактор Va + фосфолипид + Ca^{2+}).

Протромбиназа расщепляет протромбин в двух местах (Arg 320 и Arg 271). Среди продуктов расщепления преобладают а-тромбин (аминокислотные остатки 272-579) и протромбиновый фрагмент 1.2 (аминокислотные остатки 1-271). Фактор Ха в присутствии ионов кальция без фактора Va способен расщеплять протромбин в тех же точках (в обратном порядке), но со значительно меньшей скоростью (в 300 000 раз). Сам тромбин может расщеплять протромбин по аминокислотным остаткам 155 и 284.

Неактивный предшественник фактора V циркулирует в плазме в виде одиночного полипептида, асимметричного гликопротеина. Он синтезируется в печени и мегакариоцитах, причем первый впоследствии превращается в ФV плазмы, а второй — в тромбоцитарный ФV.

Взаимодействие фактора V с протромбином обеспечивается с помощью тромбоцитарного скелета на участке плазматической мембраны, связывающем все элементы протромбоцитарного комплекса. Фактор V служит рецептором для прикрепления фактора Ха к активированным тромбоцитам в месте повреждения. Фактор Va также связывается с протромбином, облегчая взаимодействие фактора Ха и протромбина. При анализе кДНК-фактора V показано, что его доменная структура аналогична структуре фактора VIII, представленной выше. Ген фактора V локализован на хромосоме 1. Фактор V превращается в активный кофактор Va за счет ограниченного протеолиза тромбином и фактором Ха. Тромбин удаляет домен B, превращая одноцепочечный полипептид фактора V в двухцепочечный фактор Va.

Тромбин вызывает гидролиз фибриногена до фибрина. Фибриноген (M_r 340 000) представляет собой сложный гликопротеин, состоящий из трех пар неидентичных полипептидных цепей: двух α -, двух

β - и двух γ -цепей. Фибриноген — продукт трех генов, каждый из которых кодирует одну из разновидностей полипептидных цепей. Гены сгруппированы вместе на длинном плече хромосомы 4. Фибриноген синтезируется в основном гепатоцитами, но присутствует в мегакариоцитах и тромбоцитах. Его синтез индуцируется повреждением тканей, воспалением, стрессом (состояниями острой фазы). Фибриноген играет важную роль в нормальном гемостазе, а также задействован в процессах при нарушенном гемостазе. Таким образом, кровотечение или тромбоз — обычные проявления или качественных, или количественных изменений в фибриногене.

Тромбин прежде всего расщепляет аргинин-глициновые связи фибриногена с образованием двух пептидов (фибринопептид А и фибринопептид В) и мономера фибрина. Эти мономеры образуют полимер, соединяясь бок в бок (фибрин I), и удерживаются рядом водородными связями (растворимые фибриновые комплексы). Последующий гидролиз этих комплексов при действии тромбина приводит к выделению фибринопептида В. Кроме того, тромбин активирует фактор XIII, который в присутствии ионов кальция связывает боковые цепи полимеров (лизин с глутаминовыми остатками) изопептидными связями. Между мономерами возникают многочисленные перекрестные связи, создающие сеть взаимодействующих фибриновых волокон (фибрин II), весьма прочных и способных удерживать тромбоцитарную массу на месте травмы.

Биологические функции тромбина. Помимо образования фибрина, тромбин активирует тромбоциты, факторы и профакторы коагуляции, действует за пределами механизма свертывания крови. Тромбин активирует фибринолитическую систему. Он также вызывает миграцию лейкоцитов и регулирует тонус

сосудов и, наконец, стимулируя рост клеток, способствует репарации тканей.

Активность факторов I–XIII можно измерить в плазме. Плазму приготавливают с добавлением в цельную кровь связывающего кальций вещества (цитрат натрия). Когда кровь в пробирке свертывается в отсутствие хелатирующего агента или антикоагулянта, образуется сыворотка. Сыворотка не содержит фибриногена, факторов II, V и VIII, поскольку они утилизируются в процессе образования сгустка. При активации факторов V и VIII незначительным количеством тромбина в пробирке или *in vivo* их активность быстро исчезает, поэтому факторы V и VIII называют лабильными факторами свертывания.

ПРОТИВОСВЕРТЫВАЮЩАЯ СИСТЕМА КРОВИ

Основной ингибитор тромбина — антитромбин III (плазминовый антитромбин), который служит основным веществом, необходимым для работы гепарина крови, вырабатываемого тучными клетками. Также существуют такие плазменные белки, как протеины C и S, активирующие плазминоген, то есть ускоряющие фибринолиз и расщепляющие фактор V свертывания крови. Синтез этих белков происходит в печени и зависит от присутствия витамина K. Находящийся на мембранах эндотелиальных клеток тромбомодулин связывает тромбин, в ингибиции которого также участвуют тромбопластины.

Во время беременности происходят следующие процессы в системе гемостаза:

- увеличение всех факторов свертывания крови (кроме XI, XIII);
- увеличение активности фактора VIII;
- увеличение уровня фибриногена начиная с 10 нед беременности;
- снижение фибринолитической и антикоагуляционной активности;

- снижение активности факторов XI и XIII;
- снижение активности и уровня антитромбина III (АТ III), протеина S, фибринолиза;
- уровень тромбоцитов — практически не меняется.

2.2. ФАКТОРЫ РИСКА ТРОМБОТИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ У БЕРЕМЕННЫХ

Причины тромбоэмболических осложнений многофакторны, сложны и до сих пор до конца не изучены. При нарушении венозного кровотока, гемостатического гомеостаза, повреждении сосудов возникает повышенная склонность к внутрисосудистому свертыванию крови и тромбообразованию. Вместе с тем внутрисосудистое свертывание крови, даже массивное, не всегда переходит в тромбоз. Ликвидация нарушений гемостаза, а также улучшение венозного кровотока — основные направления в профилактике венозных тромбозов.

Беременность сама по себе повышает риск возникновения венозных тромбозов в 5–6 раз. Среди патогенетических механизмов, объясняющих эту взаимосвязь, первостепенное значение имеют сдавление беременной маткой нижней полой вены и подвздошных вен, увеличение объема циркулирующей крови и недостаточность венозных клапанов. Существуют также предрасполагающие факторы, такие как тенденция к стазу в результате гормональных изменений, состояние физиологической гиперкоагуляции, обусловленное изменением реологических и свертывающих свойств крови и ингибиции фибринолиза.

Патогенез тромбоза связан с тремя основными факторами (триада Вирхова): повреждением сосудистой стенки, нарушением кровотока (стаз) и изменением свертывающих свойств крови. Роль каждого из перечисленных факторов в возникновении тромбоза