

БИОФИЗИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ КОНТАКТНОЙ АКТИВАЦИИ СВЕРТЫВАНИЯ ПЛАЗМЫ КРОВИ

© 2017 г. В.А. Терентьева* **, А.Н. Свешникова* ** *** ****, М.А. Пантелеев* ** *** *****

*Физический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы, 1/2

**Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева, 117997, Москва, ул. Саморы Мошела, 1

***Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии, 119991, Москва, ул. Косыгина, 4

****Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова МЗ РФ, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1

*****Факультет биологической и медицинской физики Московского физико-технического института, 141700, Долгопрудный Московской области, Институтский пер., 9

E-mail: terenteva@physics.msu.ru

Поступила в редакцию 12.07.16 г.

После доработки 18.02.17 г.

Представлен обзор биохимических и биофизических механизмов активации системы свертывания, происходящей при контакте с чужеродной поверхностью и приводящей через цепь ферментативных реакций каскада к полимеризации фибрина и образованию сгустка плазмы крови, пронизывающего первичный тромбоцитарный агрегат и приводящего к образованию плотной гемостатической пробки – тромба. На данный момент не существует единого мнения о процессах, происходящих при контакте плазмы с поверхностью, несмотря на большое количество теоретических и экспериментальных работ на эту тему. Обсуждается роль белка плазмы крови фактора XII и различных поверхностей для запуска контактного пути свертывания крови *in vivo* и *in vitro*. Представлена существующая на данный момент времени в мировой литературе картина молекулярных событий, лежащих в основе процесса.

Ключевые слова: свертывание крови, внутренний путь, контактная активация, фактор XII, фактор XI, калликреин, кининоген.

С древнейших времен люди наблюдали, как сворачивается кровь, собранная в процессе кровопускания и помещенная в какую-либо емкость. Это можно считать первым экспериментом *in vitro* для наблюдения работы системы свертывания крови, основная функция которого заключается в остановке тока крови при повреждении кровеносного сосуда.

Долгое время оставалось загадкой, что именно запускает процессы свертывания. Первоначально считалось, что именно контакт крови с инородной поверхностью является главным механизмом запуска физиологического свертывания крови при повреждении сосуда. Такая активация получила название «контактный путь свертывания». По мере развития представления о свертывании как о каскаде биохимических реакций феномен контактной активации был

забыт на десятилетия, но недавно интерес к нему опять возродился, так как он стал рассматриваться как главный путь патологического свертывания крови при тромбозе.

Нежелательные явления гиперкоагуляции – тромбозы – приводят к ишемическим инфарктам и инсультам, которые, по данным Всемирной организации здравоохранения (World Health Statistics, 2014), входят в число лидирующих причин смертности как в развитых, так и развивающихся странах. Именно поэтому в настоящее время на удивительных, сложных и интересных механизмах, лежащих в основе этого заболевания, сосредоточены усилия биохимиков, биофизиков и врачей всего мира.

СИСТЕМА ГЕМОСТАЗА И КОНТАКТНЫЙ ПУТЬ

В классической литературе выделяют два механизма гемостаза (греч. *haimatos* – кровь,

Сокращение: ВМК – высокомолекулярный кининоген.

stasis – остановка): первичный (сосудисто-тромбоцитарный), который почти целиком обусловлен сужением сосудов (вазоконстрикцией) и их механической закупоркой агрегатами тромбоцитов, и вторичный (плазменный). Первичный гемостаз реагирует на повреждение быстро (1–3 мин), в то время как для вторичного требуется время (порядка 10 мин), т.е. при большой скорости потока фибриновый сгусток размывается прежде, чем успевает сформироваться [1–4]. Хотя идеального разделения сосудисто-тромбоцитарного и плазменного гемостаза не существует, общепринято, что сосудисто-тромбоцитарный механизм играет ключевую роль при повреждении сосуда с большой скоростью потока. После образования первичного тромбоцитарного сгустка степень сужения сосудов уменьшается, что вызывает риск вымывания сгустка восстановившимся током крови через поврежденный участок. Однако к этому времени уже набирают достаточную силу процессы желирования плазмы (определяемого полимеризацией фибрина), и вторичный гемостаз обеспечивает плотную закупорку поврежденных сосудов тромбом (белым или красным кровяным сгустком), который может содержать не только тромбоциты, но и другие клетки крови, в частности эритроциты [4].

Плазменное звено гемостаза традиционно представляют в виде серии (каскада) взаимосвязанных превращений зимогенов в ферменты, обладающих свойством самоусиления, приводящих к активации протромбина, активная форма которого является сериновой протеазой – тромбином, который, в свою очередь, гидролизует фибриноген, превращая его в фибрин [2,4]. Основная функция тромбина – протеолитически расщеплять растворимый белок плазмы фибриноген для формирования мономеров фибрина, которые остаются растворимыми. Мономеры фибрина затем полимеризуются и преобразуют плазму крови в гель, фиксирующий клетки крови. Биохимия каскада плазменного свертывания представлена на рис. 1. Исторически различают два пути свертывания – внешний и внутренний, который по-другому называется контактным путем. Свертывание по внешнему пути требует появления в кровотоке тканевого фактора, белка мембран клеток субэндотелия, в то время как все компоненты внутреннего пути всегда присутствуют в крови здорового человека. Инициация любого пути ведет к активации фактора X, появлению тромбина и в конечном итоге полимеризации фибрина и формированию сгустка. Внутренний путь начинается при контакте крови с различными поверхностями, от стекла до мембраны активированного тромбоцита [2].

Внешний путь свертывания играет основную роль в остановке кровотечения при повреждении сосудов и является одним из ключевых компонентов нормального гемостаза человека. Он начинается при связывании фактора VII с трансмембранным белком субэндотелия сосудов – тканевым фактором [4]. Комплекс VII–Ха, называемый комплексом внешней теназы, обладает способностью активировать фактор X, который, в свою очередь, может активировать тромбин [5].

Внутренний путь начинается с активации другой сериновой протеазы плазмы крови – фактора XII (фактора Хагемана). Еще в 1955 г. американский врач и исследователь О. Ратнов (Oscar Ratnoff) описал случай пациента, Джона Хагемана (John Hageman), кровь которого показывала увеличенное время свертывания в стандартных тестах в стеклянных пробирках [6,7], хотя никаких геморрагических симптомов у пациента обнаружено не было. Ратнов выдвинул гипотезу, что результаты тестов *in vitro* объясняются дефицитом фактора свертывания, который он назвал фактором Хагемана. В дальнейшем этот фактор получил номер 12 среди белков свертывания плазмы крови. В 1961 г. тот же Ратнов показал, что фактор XIIa вносит свой вклад в каскад свертывания, активируя фактор XI, активная форма которого обладает способностью расщеплять фактор IX, тем самым запуская всю цепочку реакций свертывания [6,7].

Место внутреннего пути в общем каскаде изображено на рис. 1. Образовавшийся в результате работы контактного пути фактор IXa образует комплекс с фактором VIIIa, называемый внутренней теназой, которая активирует фактор X. Фактор Ха, связываясь с фактором Va, активирует протромбин в его активную форму – тромбин [5]. Как видно из рисунка, в каскаде свертывания возникает множество положительных обратных связей, которые способствуют итоговому образованию качественного фибринового сгустка в потоке. Физиологические функции внутреннего пути у здорового человека еще до конца не ясны. На данный момент принято считать, что *in vivo* фактор XII вносит малый вклад в функционирование системы гемостаза и при нормальных физиологических условиях участие белков внутреннего пути ограничивается в основном активацией фактора XI тромбином [8]. А активация фактора XII становится критичной в процессе образования тромбов (см. рис. 2). Опыты на мышцах с выключенными генами фактора XII показали, что они гораздо лучше защищены от ишемических инсультов, нежели их здоровые собратья, поскольку у таких мышечей не наблюдается формирование патологических тром-

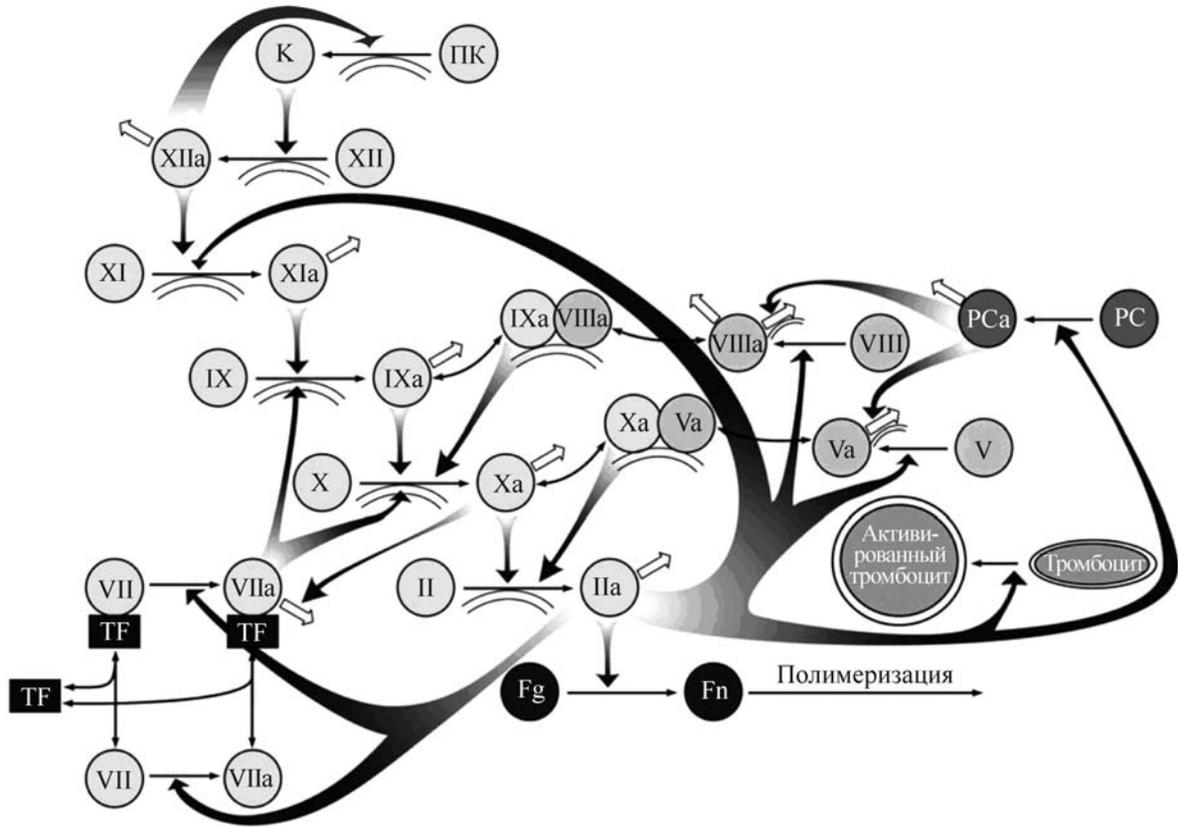


Рис. 1. Упрощенная схема каскада свертывания. Каждый фактор свертывания представлен на схеме в виде неактивного фермента, который может быть превращен в активный фермент. Внешний путь: индуцированная поверхность активация фактора XII приводит к образованию фермента – фактора XIIa, который расщепляет фактор XI до активной формы. Образующийся фактор XIa подхватывает эстафету и активирует фактор IX, активная форма которого расщепляет фактор X до фактора Xa. Внешний путь: образование комплекса между тканевым фактором и фактором VIIa активирует фактор X. Таким образом, можно выделить общее ядро каскада, не зависящее от того, каким путем был получен фактор Xa. Общий путь начинается с активации фактора X. Активный фактор X в присутствии фактора V, ионов кальция и фосфолипидов превращает протромбин в тромбин. Тромбин также активирует фактор XIII, который участвует в ковалентном кросссвязывании фибриновых мономеров для формирования практически нерастворимого стабильного сгустка. Также тромбин усиливает образование нового тромбина из протромбина и катализирует активацию кофакторов V и VIII путем положительных обратных связей. С изменениями из работы (А. М. Шибeko и др., Биологические мембраны, 26 (6), 443 (2009)).

бов [9]. Кроме того, выключение по гену прекалликреина (еще один белок контактного пути, см. схему на рис. 1) значительно уменьшает число случаев артериальных и венозных тромбозов у таких мышей [10]. Эта же тенденция подтвердилась в опытах на приматах [10]. Однако, по иронии судьбы сам Джон Хагеман умер от тромбоэмболии легочной артерии, и по клиническим данным смертность от тромбозов среди людей, дефицитных по фактору Хагемана, сходна с распределением для пациентов с нормальным уровнем этого фактора [3,8,9]. Причина этого противоречия может лежать в гетерогенности тромбозов, только некоторые из которых могут быть связаны с активацией внутреннего пути.

Еще одно интересное влияние фактора XII на систему гемостаза относится к его участию в системе фибринолиза, которое, по всей видимости, носит разнонаправленный характер в зависимости от физиологических условий [11]. Активный фактор XII может подавлять ингибитор активатора плазминогена первого типа и активировать активатор плазминогена [12], тем самым способствуя фибринолизу. При этом в части работ была отмечена способность его активной формы влиять на структуру фибринового сгустка, делая его более устойчивым к лизису. Связываясь с фибрином или фибриногеном, фактор XIIa вызывает более плотную организацию фибриновых волокон [13] (подробнее см. подпись к рис. 3). Он непосредственно влияет на структуру тромба [14] и действует независимо от генерации тромбина [15].

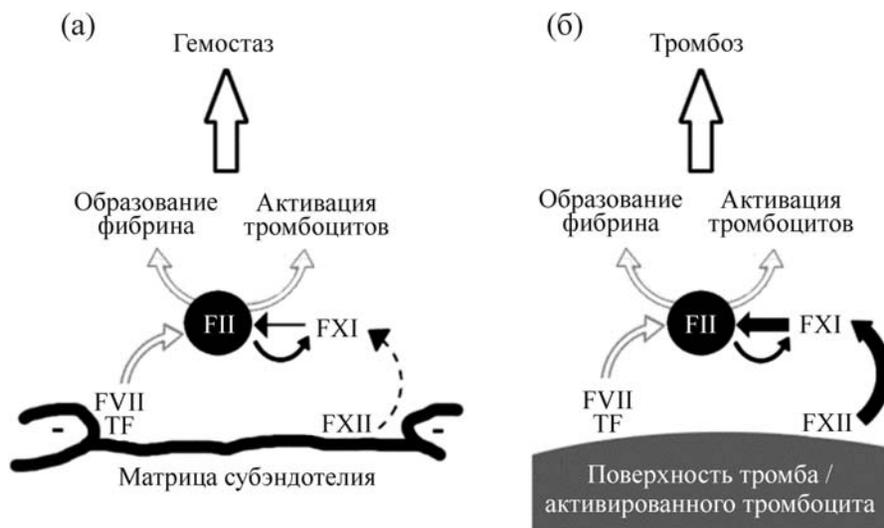


Рис. 2. Вклад фактора XII в систему гемостаза и формирование тромба [82]. (а) – Генерация тромбина в местах повреждения возникает в основном из-за экспонирования тканевого фактора матрицей субэндотелия; вклад контактного пути незначителен. (б) – Для формирования тромба необходима дополнительная генерация тромбина, которой способствует фактор XII, внося свой вклад в образование тромбина и активацию тромбоцитов и стимулируя рост тромба. С изменениями из работы (T. Renne, et al., J. Exp. Med., 202 (2), 271 (2005)).

ФАКТОРЫ КОНТАКТНОЙ АКТИВАЦИИ

Все ферменты каскада свертывания крови представляют собой сериновые протеазы, находящиеся в плазме в виде неактивных зимогенов в активируемые друг другом путем расщепления одной или нескольких пептидных связей. Большинство ферментов работает с кофакторами – белками, предположительно стабилизирующими активную конформацию фермента. К контактной активации принято относить цепочку реакций, проиллюстрированную на рис. 4 и катализируемую фактором XIIa и калликреином, кофактором которых является высокомолекулярный кининоген (ВМК). Для активации внутреннего пути необходима тесная локализация аллостерических белков – фактора XII, фактора XI и прекалликреина – на активирующей поверхности, которая обеспечивается благодаря присутствию ВМК, белка-кофактора, служащего промежуточным звеном между факторами и мембраной.

Первым событием является превращение фактора XII в активную форму, происходящее при контакте этого белка с активирующей поверхностью. Однако скорость такой активации ограничена. Тем не менее наличие петель положительной обратной связи значительно ускоряет активацию. Стоит лишь малому количеству активного фактора образоваться, этот фермент начинает не только расщеплять свою собственную неактивную форму, но и превращать прекалликреин в калликреин, который, в свою очередь, активирует фактор XII и при-

водит к усилению реакции активации контактного пути на поверхности [16]. В отсутствие калликреина активация контактного пути и фактора XI значительно откладывается до появления тромбина, способного активировать фактор XI [17].

На начальных этапах активации ВМК связывается преимущественно с фактором XIIa, взаимодействие с которым приводит к появлению активной формы ВМК, более аффинной к поверхности [18,19]. ВМК нековалентно связывается с калликреином [7], фактором XI [20] и его активной формой [21], играя роль неферментативного кофактора [20,22]: он способствует более тесной дислокации участников контактной активации на поверхности, что значительно ускоряет реципрокную активацию, при этом не оказывая влияния на автоактивацию [2,23]. Экспериментально показано, что присутствие ВМК необходимо для связывания с поверхностью и активации фактора XI и прекалликреина [24] (более того, в плазме лишь 25% прекалликреина циркулирует в свободном виде, остальные 75% нековалентно связаны с ВМК [18]). Интересно отметить, что после активации фактор XIa остается ассоциированным с ВМК, в то время как калликреин высвобождается в раствор [24], стимулируя ферментативную активацию вдали от поверхности [17].

Появление калликреина ускоряет процесс активации фактора XII, так как калликреин может расщеплять фактор XII в 2000 раз быстрее, чем фактор XIIa [27] – это позволяет выдвинуть предположение о превалировании в

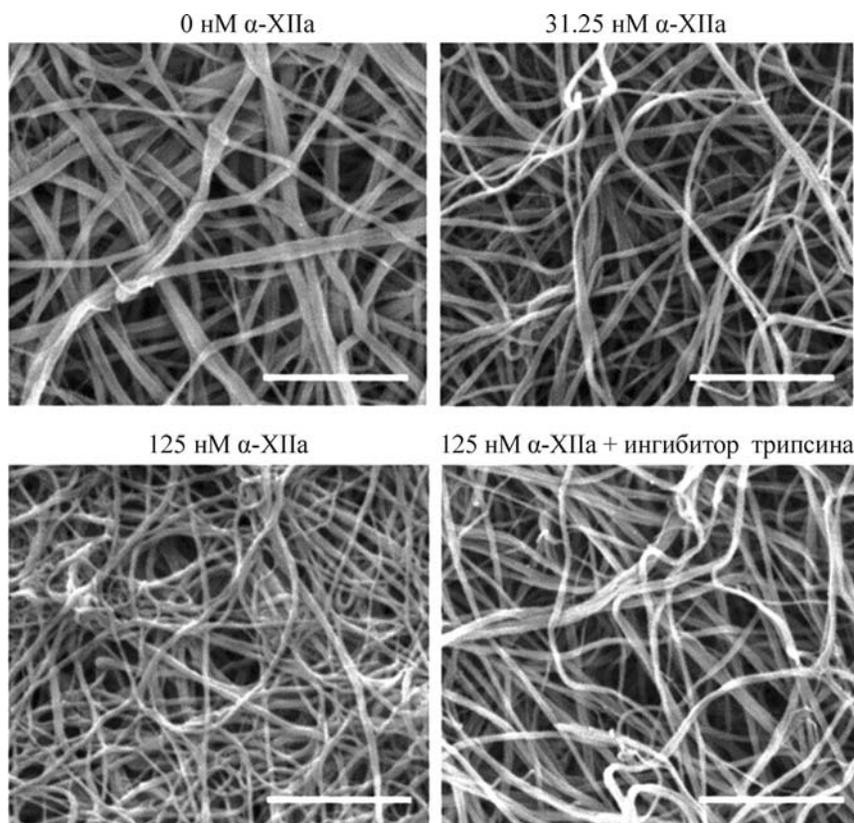


Рис. 3. Влияние фактора XIIa на структуру фибринового сгустка. Фибриновый сгусток, полученный после 2 ч инкубации с тромбином и различными количествами фактора XIIa. На последней картинке к смеси был добавлен кукурузный ингибитор трипсина для ингибирования фактора XIIa. Изображение получено с помощью сканирующего электронного микроскопа. Масштаб 1 мкм. Рисунок из работы [15].

плазме реакции [25] с калликреином над другими механизмами активации фактора XII [26]. Предполагается, что прекалликреин в плазме является более предпочтительным субстратом для фактора XIIa, чем зимогены XII и XI и другие мишени. Таким образом, способность фактора XIIa расщеплять прекалликреин до калликреина и способность калликреина активировать предшественника фактора XII приводит к появлению петли обратной связи [2,14] – синергии, которая обеспечивает, с одной стороны, усиление генерации фактора XIIa [17], а с другой стороны, появление в системе калликреина (в отсутствие фактора XIIa прекалликреин не активируется от поверхности [18]).

АКТИВАЦИЯ И АКТИВНЫЕ ФОРМЫ ФАКТОРА XII

Крайне интересным является вопрос появления в системе начальных количеств фактора XIIa. Активация фактора XII не может быть описана как простой процесс ферментативного катализа. Со структурной точки зрения при активации происходит превращение факто-

ра XII, который циркулирует в крови в виде одноцепочечного зимогена (более детально см. рис. 5 и подпись к нему), в двухцепочечный активный фермент [27], которое может осуществляться при расщеплении дисульфидной связи протеазами [28] или из-за внутримолекулярных изменений, индуцированных поверхностью [29] (более подробно этот процесс описан в следующем разделе).

Таким образом, выделяют три режима активации фактора XII: спонтанная активация (при связывании с поверхностью); автоактивация, или автогидролиз (активация под действием собственной активной формы); реципрокная активация (активация под действием белка калликреина). В отсутствие калликреина появление активного фактора XII можно связывать со спонтанной активацией, т.е. необратимым изменением, вызванным связыванием с поверхностью, или же с автоактивацией – ферментативным расщеплением, осуществляемым следовыми количествами активного фактора [30]. Математическое моделирование двух режимов активации фактора XII показало, что на данный момент экспериментальные данные не по-

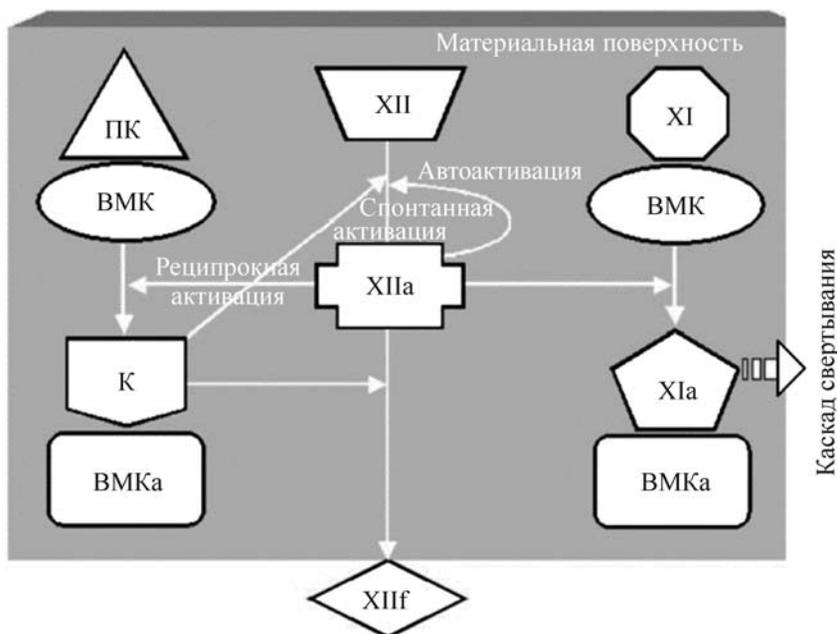


Рис. 4. Схема взаимодействий белков внутреннего пути на поверхности. Фактор XII (FXII) локализуется на поверхности, что вызывает конформационные изменения, приводящие (предположительно) к спонтанной активации и увеличению доступности для расщепления другими протеазами – собственной активной формой фактора XIIa и калликреином (К), что обеспечивает автоактивацию и реципрокную активацию соответственно. В свою очередь, фактор XIIa активует прекалликреин (ПК) и фактор XI (FXI), которые локализуются на поверхности с помощью высокомолекулярного кининогена (ВМК). Серия протеолитических расщеплений в конце концов приводит к выходу в раствор факторов XIa и β -XIIa.

звolyют кинетически различить эти механизмы [31], оставляя вопрос о появлении начальных количеств активной формы фактора XII открытым.

Наблюдения активации в буферных системах показали, что ферментативная активность фактора XIIa достаточно быстро достигает постоянного значения, выходя на плато и при длительном контакте с поверхностью – активатором [30], сохраняющим свои прокоагулянтные свойства [32], и при присутствии фактора XIIa в растворе [2]. Это можно было объяснить наличием некоторого самолимитирующего механизма или даже автоингибирования [30,33], приводящего к деградации фактора XIIa на формы, которые различаются функционально [34] и которые обладают амидолитической активностью (и следовательно обнаруживаются в экспериментах по расщеплению хромогенного субстрата), но необязательно прокоагулянтной [32], т.е. не обладают способностью активировать другие факторы свертывания и поддерживать процесс свертывания. Также может происходить образование ферментов без амидолитической или прокоагулянтной активности: вероятно, степень расщепления исходной молекулы недооценивается, так как при измерении используют методы, чувствительные ко времени свертывания или расщеплению суб-

страта. Предполагается, что процессы образования амидолитических и прокоагулянтных фрагментов независимы [32].

При активации фактора XII происходит расщепление исходной молекулы в шести возможных местах, при этом функция мелких фрагментов остается неизвестной [32]. Гипотезу о существовании нескольких форм активного фактора подтверждают и данные гелевого электрофореза в присутствии радиоактивно меченого фактора XII: образование различных форм зависит от присутствия в системе калликреина, действие которого необходимо для появления β -фактора XIIa [14,34].

По всей видимости, прокоагулянтной активностью обладают две формы: α -XIIa и β -XIIa. Первичным продуктом активации является 80 кДа-форма – α -XIIa (расщепление вблизи дисульфидной связи – см. рис. 5), которая в дальнейшем превращается в 28 кДа β -XIIa (расщепление за границами области дисульфидной связи) [35]. По последним данным, β -XIIa может существовать в виде дуплета: по всей видимости, его 30 кДа форма содержит тяжелую и легкую цепи (28 и 2 кДа соответственно). Так как домен связывания с поверхностью содержится в тяжелой цепи (52 кДа), а каталитический домен – в легкой (28 кДа) [27], α -XIIa

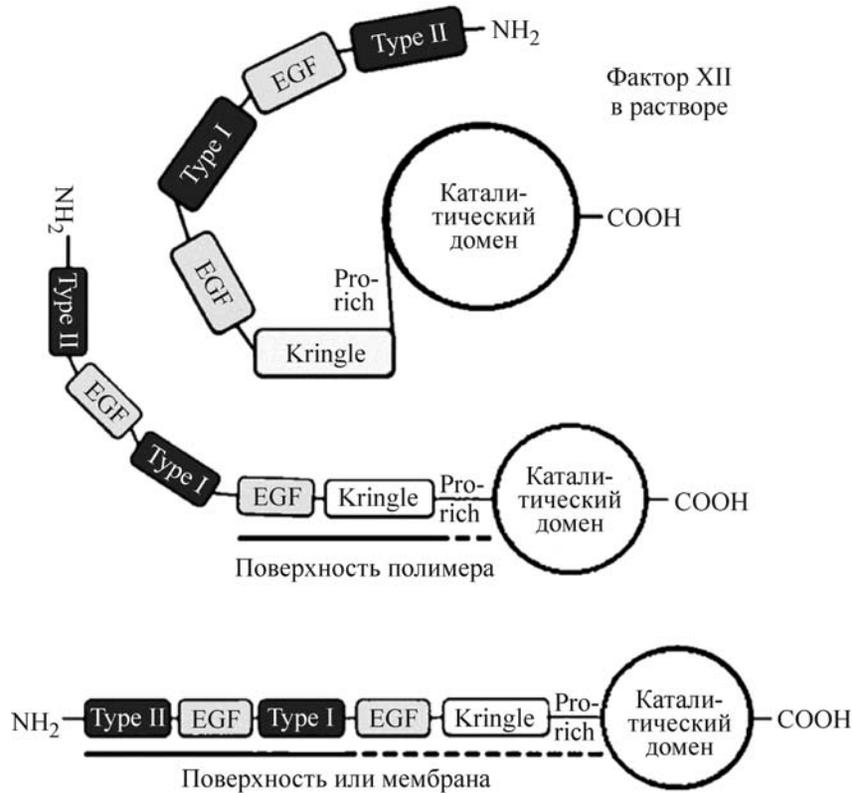


Рис. 5. Гипотетическая схема конформации фактора XII в растворе, в связи с полимером и на поверхности. В растворе конформация фактора XII препятствует ферментативной активации. При связывании с полимером происходит частичное разворачивание, облегчающее доступ калликреина к специфичным к нему сайтам. При связывании с прокоагулянтными поверхностями происходит полное разворачивание и экспонирование сайта связывания с фактором XI. Домены, богатые аргинином, отмечены светлым фоном; Type I и Type II – фибронектиновые домены типа I и II; EGF – домены типа эпидермального фактора роста; kringle – крингл-домен; Pro-rich – участок, богатый пролином. С изменениями из работы [44].

сохраняет способность предшественника связываться с поверхностью и приобретает возможность активировать прекалликреин и фактор XI [36], когда те связаны с поверхностью, а β -XIIa способен только к активации прекалликреина, как свободного, так и связанного [21, 35, 37]. Таким образом, прокоагулянтная активность возможна и на поверхности – за счет альфа-формы, и в растворе – за счет бета-формы [17]. Показано, что α -XIIa обладает большей аффинностью к таким поверхностям, как декстран-сульфат, по сравнению со своим предшественником XII [38]. Образование β -XIIa возможно и в отсутствие калликреина, но процесс происходит гораздо медленнее [34], что подтверждают и эксперименты по активации сульфатидами [29]. Остальные фрагменты – связанный с поверхностью 40 кДа-остаток тяжелой цепи, свободный маленький 12 кДа-фрагмент [2] и потенциально более мелкие фрагменты, образование которых связано с присутствием в системе каких-либо протеаз [30], – не обладают прокоагулянтной активностью.

Превращение всего доступного фактора XII в форму, которая не может далее активироваться из-за денатурации, конформационного изменения или какого-либо другого механизма и остается в растворе в нефункциональном состоянии, может объяснить явление самолимитирования без допущения об аутоингибировании. Амидолитические фрагменты аутоактивации также могут вносить свой вклад в ингибирование: увеличение их концентрации препятствует дальнейшей активации фактора XII, предположительно за счет взаимодействия с поверхностями-активаторами [2]. Кроме того, гипотеза об аутоингибировании противоречит экспериментам, в которых добавление нового фактора XII не увеличивало количества прокоагулянтных фрагментов [32].

Было показано, что итоговое отношение различных фрагментов фактора XII при активации в буфере зависит от свойств прокоагулянтной поверхности [30, 32, 39, 40], что лишнее свидетельствует о том, что изучение свойств поверхности-активатора и ее роли на различных

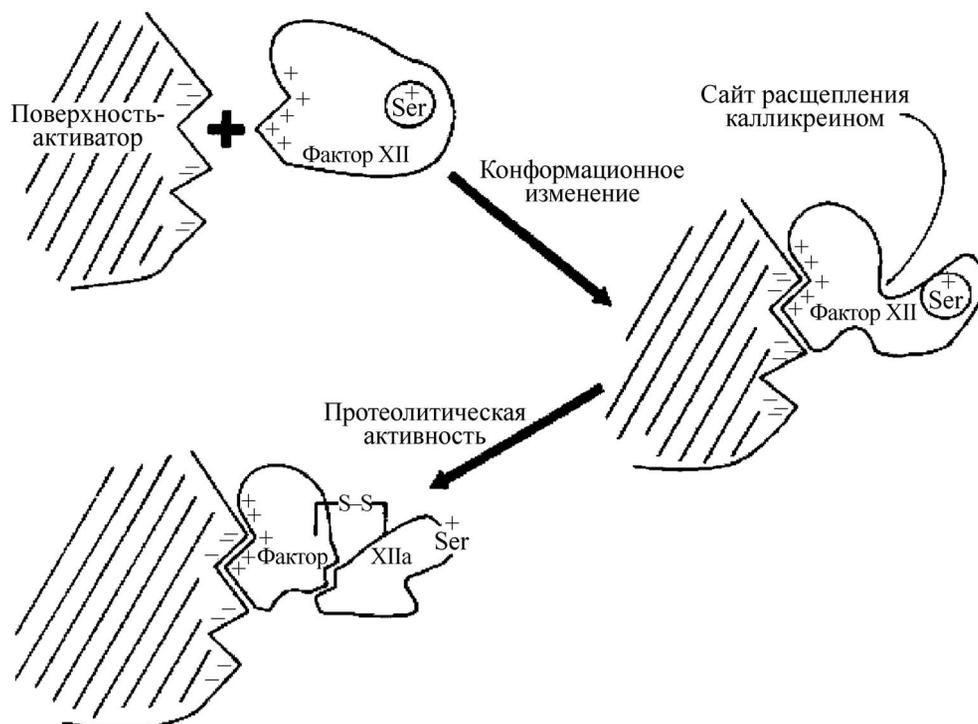


Рис. 6. Схематическая модель влияния поверхности на активацию фактора XII. Взаимодействие молекулы фактора XII с поверхностью индуцирует конформационное изменение, которое делает участок вблизи каталитического домена более доступным для расщепления протеазами. После первичного расщепления легкая и тяжелая цепь остаются соединенными дисульфидной связью, поэтому первичный продукт реакции имеет ту же молекулярную массу, что и предшественник. Расщепления в области дисульфидной связи высвобождают β -XIIa, который уходит в раствор. С изменениями из работы [51].

этапах контактной активации является очень важной задачей в изучении системы свертывания.

РОЛЬ ПОВЕРХНОСТИ И ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С ФАКТОРАМИ ВНУТРЕННЕГО ПУТИ

Как уже обсуждалось выше, поверхность-субстрат является важным участником в процессах контактной активации, так как многие реакции локализованы на поверхности.

В первую очередь, само по себе присутствие активационной поверхности необходимо для активации фактора XII – наблюдения доказывают, что в отсутствие заметного контакта с чужеродной поверхностью после шести часов инкубации в нормальных физиологических условиях менее 1% фактора XII превращается в активную форму [23]. Таким образом, можно рассмотреть влияние поверхности на реакцию активации фактора XII – спонтанную, автоактивацию и реципрокную активацию. В литературе спонтанная активация также называется «активацией, индуцированной поверхностью». Предполагается, что связывание с поверхностью вызывает необратимое конформационное

изменение структуры фактора XII, что схематически представлено на рис. 6. При этом происходит не ферментативное расщепление, а разрыв ковалентных связей, который может привести к спонтанной активации.

Фактор XII, как и другие сериновые протеазы каскада свертывания, состоит из нескольких структурных доменов: фибронектиновые домены типа I и II, домены типа эпидермального фактора роста (EGF), крингл-домен (kringle), участок, богатый пролином (Pro-rich region) и каталитический домен (рис. 5). Поиски предполагаемого сайта связывания с поверхностью приводили к различным гипотезам о его локализации. Так, исследования влияния моноклональных антител на активацию от декстран-сульфата позволили предположить, что сайт связывания находится в фибронектиновом домене типа II [27]. Однако чаще всего в качестве места локализации в литературе фигурируют участки тяжелой цепи, такие как фибронектиновый домен типа I [36]. На данный момент наиболее вероятными кандидатами являются фибронектиновые домены и участок с повышенной концентрацией пролина [41]. Исследования на рекомбинантном факторе XII привели к гипотезе о существовании двух суб-

стратсвязывающих сайтов, один из которых относится к связыванию с поверхностью и прекалликреином, а другой – к связыванию фактора XI [42]. Каталитический центр и сайт связывания с С1-ингибитором находятся на легкой цепи [36], поэтому повреждения легкой цепи ведут к нарушениям ферментативной активности фактора XII. Структура N-концевого региона гомологична структуре тканевого активатора плазминогена (tPA) [15], что объясняет его фибринолитические свойства.

В связывании с поверхностью принимают участие крингл-домен и домен типа EGF, в результате чего каталитический домен становится доступным для расщепления калликреином [43] и экспонируются сайты связывания прекалликреина (рис. 5), поэтому в данной конформации активированный фактор XII становится активатором прекалликреина [44]. Для приобретения прокоагулянтной активности, т.е. для способности активировать фактор XI, необходимо связывание с поверхностью и доменов, расположенных ближе к концу тяжелой цепи [44], так как именно там расположены участки связывания фактора XI и ВМК [20,45,46] (см. рис. 5). Таким образом, наличие нескольких сайтов связывания с поверхностью объясняет различные режимы активации фактора XII и образование активных фрагментов с амидолитической и прокоагулянтной активностью [43].

Механизмы трансформации молекулы фактора XII пока до конца не ясны – детально изменения в молекулярной структуре белка могут быть определены только кристаллографическими исследованиями [47]. Однако по одной из версий конформационное изменение может быть вызвано силами электростатического отталкивания положительно заряженного участка тяжелой цепи и отрицательно заряженной поверхности [23,39]. Это косвенно подтверждается, во-первых, наблюдениями поведения β -XII, который не связывается с отрицательно заряженными поверхностями, поскольку основные положительно заряженные аминокислотные остатки находятся в той части цепи фактора XII, которая у этого фрагмента отсутствует [48], а во-вторых, явлением ингибирования активации фактора XII положительно заряженными ионами калия и натрия, которые, находясь вблизи отрицательно заряженной поверхности, уменьшают ее взаимодействие с фактором [49].

Исследования с помощью ультрафиолетовой спектроскопии и кругового дихроизма свидетельствуют в пользу двухфазности процесса: за быстрым первичным связыванием и адгезией к поверхности, вызывающими конформационное изменение вторичной структуры [17,50,51],

которая становится более упорядоченной [52], следует медленное протеолитическое расщепление, которое также связано с конформационной перестройкой – релаксацией к изначальной нерегулярной вторичной структуре [52].

Интересно отметить, для активации необходимо наличие нескольких сайтов связывания фактора XII на поверхности-активаторе [53], более того, теоретические расчеты показывают, что именно варибельность поверхностей по количеству сайтов связывания для факторов контактной активации является основой распознавания «собственных» и «чужеродных» поверхностей, которое необходимо для существования пороговых свойств активации: система должна активироваться лишь при превышении прокоагулянтным стимулом некоторого порогового значения и не реагировать на поверхности, которые имеют контакт с кровью при физиологических условиях [19]. Это согласуется с наблюдениями о том, что эффективными активаторами являются только высокомолекулярные соединения: например, скорость активации падает с уменьшением молекулярной массы декстран-сульфата [52,54]. Молекулярная масса поверхности (на примере декстран-сульфата) влияет и на реципрокную активацию как в буферном растворе [28], так и в плазме [20]: в плазме могут индуцировать активацию фактора XII только те образцы декстран-сульфата (образцы различались молекулярной массой), которые способствуют автоактивации в буферном растворе [28]. Это может объясняться преимущественным образованием бета-формы [41,55] или вторичных фрагментов, которые не могут активировать фактора XII, в случае низкомолекулярных соединений, или же влиянием их на производство калликреина [20], на соотношение процессов автоактивации и реципрокной активации или взаимодействие калликреина и фактора XII [28]. Также это может служить косвенным доказательством того, что молекула фактора XIIa может активировать несколько молекул прекалликреина [28].

Таким образом, поверхность влияет на все три реакции, приводящие к появлению фактора XIIa. Кроме того, количество доступной поверхности непосредственно влияет на скорость реакции: увеличение площади поверхности увеличивает время свертывания как плазмы, бедной тромбоцитами [2], так и цельной крови [30]; кроме того, увеличение поверхности приводило к уменьшению итоговой концентрации фактора XIIa. Эксперименты по активации фактора XII сульфатидными частицами [29,48] и декстран-сульфатом [49,56] показали наличие колоколообразной зависимости скорости реакции от концентрации сульфатидов: при низких концентрациях сульфатидов с их увеличением и

скорость, и общее число активированного фактора XII увеличивается, проходит через максимум, а после превышения некоторой критической величины наблюдается спад. Такая же зависимость наблюдается и при изменении начальной концентрации фактора XII [29,49] – это позволяет предположить, что важно учитывать не только параметры самой поверхности, но также соотношение белок–поверхность и плотность связывания фактора XII на поверхности [22]. Эту гипотезу подтверждает и тот факт, что добавление β -ХIIа (который не может связываться с поверхностью) не изменяет скорости реакции, а добавление α -ХIIа (обладающего большой аффинностью к поверхности) – увеличивает [22]. Таким образом, можно выделить два основных лимитирующих параметра: можно считать, что активация прекращается при исчерпании доступного субстрата или же при исчерпании всего доступного фактора XII [57]. Также можно предположить, что избыток поверхности приводит к увеличению расстояния между связанными с поверхностью факторами XII и ХIIа, что затрудняет их взаимодействие [50]. Таким образом, локализация факторов на поверхности является необходимым условием для инициации контактного пути [25,32].

Поверхность влияет и на кинетику реципрокной реакции [58]: эксперименты в буферной системе показали, что калликреин в отсутствие декстран-сульфата активирует фактор XII крайне медленно [22,23], а в присутствии поверхности активация калликреином ускоряется [23,29], что объясняется формированием на поверхности фермент-субстратных комплексов [59].

Долгое время считалось, что контактная активация может происходить только на анионных или гидрофильных (смачиваемых водой) твердых поверхностях высокой молекулярной массы [49,60]. Эти предположения полностью согласовывались с тем фактом, что кровь гораздо быстрее сворачивается в стеклянных, нежели в кремниевых или пластиковых гидрофобных пробирках. Это приводило к идеи о наличии особенных свойств взаимодействия между фактором XII и отрицательно заряженными поверхностями [39], например декстран-сульфатом и его производными [53,60]. Также было замечено, что такие белки крови, как альбумин, фибриноген или иммуноглобулин, не препятствуют взаимодействию между фактором XII и анионной поверхностью, что свидетельствовало пользу концепции о наличии специфичности [61,62]. Однако сравнение кинетического профиля контактной активации в буферной системе и плазме [30,39] показало, что активация фактора XII в буферной системе происходит

одинаково быстро в присутствии как гидрофильных, так и гидрофобных поверхностей, а в плазме активация на гидрофобных материалах существенно подавляется. При этом скорость образования активной формы и степень активации зависят от начальной концентрации фактора XII и белкового состава раствора, в котором происходит активация. Как уже обсуждалось ранее, для активации необходимо связывание с поверхностью, следовательно, конкурентная адсорбция других белков плазмы [30], приводящая к уменьшению доступной для фактора XII поверхности [63], объясняет снижение эффективности активации от гидрофобных поверхностей в плазме [64]. В случае гидрофильных поверхностей конкурентной адсорбции не возникает, вокруг гидрофильных поверхностей не возникает область повышенной концентрации белков [64] и белки плазмы гораздо менее охотно связываются с такими поверхностями [2], в то время как для белков внутреннего пути гидрофильность поверхности способствует связыванию за счет образования водородных связей с различными функциональными группами.

Подводя итог, можно сказать, что согласно современной концепции фактор XII активируется как гидрофобными, так и анионными гидрофильными поверхностями, и не требует образования комплекса белков. Нет никаких оснований полагать, что механизмы адсорбции фактора XII на гидрофобные поверхности отличаются от механизмов адсорбции других белков плазмы, что приводит к конкуренции между белками плазмы за место около поверхности. Это привело исследователей к мысли, что практически любая отрицательно заряженная поверхность может вызывать контактную активацию, что является более общим явлением, нежели распознавание определенных функциональных групп [48].

В заключение раздела необходимо отметить, что в данном обзоре, в соответствии с ранее опубликованными работами [30,64,65], под терминами «связывание» и «адсорбция» подразумевается локализация вблизи прокоагулянтной поверхности (избыточное накопление растворенного вещества или растворителя в интерфазной зоне между твердой поверхностью и раствором) без рассмотрения точной природы взаимодействия. Это может быть как быстрая диффузия белков в интерфазную область [22] или взаимодействие с гидрированным приповерхностным слоем [30] (что в принципе соответствует пониманию адсорбции в терминах замещения молекул воды [63]), так и тепловая флуктуация [40].

БИОЛОГИЧЕСКИЕ АКТИВАТОРЫ ВНУТРЕННЕГО ПУТИ СВЕРТЫВАНИЯ

Все вышеперечисленные наблюдения относились к искусственным поверхностям. Самым важным и с теоретической, и с практической точки зрения является рассмотрение активации в физиологическом окружении.

Белки системы контактной активации связываются с рецепторами и мукополисахаридными соединениями, расположенными на клеточных мембранах. На настоящий момент найдены как внешние биологические активаторы, например эндотоксины и мембраны патогенных организмов [66], в том числе вирусов, так и клетки самого организма – мембраны клеток эндотелия и сердечно-сосудистой системы [9], базальные мембраны сосудов [67], поверхности тромбоцитов и моноцитов [18], внеклеточная РНК [10], содержимое гранулоцитов [36], неорганические полифосфаты, высвобождаемые при повреждении клеток и инфекционных процессах [8], и даже коллаген [68]. Любопытными являются гипотезы о том, что ряд активаторов фактора XII, такие как липополисахариды или амилоидные β -пептиды, запускают только калликреин-кининовую систему, но не вызывают ответ со стороны системы свертывания [41].

Интересной является роль нейтрофилов, поскольку их поверхность также стимулирует активацию контактного пути свертывания из-за способности их внеклеточных ловушек (neutrophil extracellular traps – NET), представляющих собой отрицательно заряженные хроматиновые нити, связывать [69] и активировать [70] фактор XII, а также вносить свой вклад в рост тромба путем захвата тромбоцитов и факторов свертывания, способствуя стабилизации микротромба. Кроме того, в активации внутреннего пути участвуют и лейкоциты [69,71].

Однако, несомненно, главным кандидатом в активаторы внутреннего пути стала поверхность тромбоцитов и микровезикул тромбоцитарного происхождения, так как именно эти клетки крови являются основным компонентом тромбов. Исследования *in vitro* показали, что они стимулируют контактную активацию [72], что подтверждается их способностью связывать и активировать фактор XII [33]. Предположительно, тромбоциты способствуют протеолитическому расщеплению фактора XII калликреином [72], а также выступают в роли источника цинка [73], который является кофактором активации фактора XII [38]. Описанные выше наблюдения *in vitro* долгое время не подтверждались *in vivo*. Наиболее убедительными кандидатами на эту роль стали полифосфаты гранул тромбоцитов, чья роль в активации калликреин-кининовой системы уже установлен-

на [9]. Предполагается, что полифосфаты являются альтернативным путем стимулирования образования тромбов, не зависящим от пути тканевого фактора [74]. Инфузия полифосфатов вызывает летальные тромбозы у мышей [3]. По всей видимости, активация, индуцированная полифосфатами, играет критическую роль именно в тромбообразовании, и, как обсуждалось выше, влияние полифосфатов сводится не к ускорению формирования фибринового сгустка, а к увеличению его стабильности [70]. Кроме того, полифосфаты также воздействуют на систему свертывания через активацию фактора XI [3].

Последние исследования показали, что полифосфаты тромбоцитов недостаточно эффективно индуцируют активацию по сравнению с каолином, который действует в десять раз эффективнее [75]. Тем не менее мембраны сверхоактивированных тромбоцитов и тромбоцитарных микровезикул обладают способностью активировать фактор XII и удерживать достаточное его количество на поверхности [33]. Кроме этого, у пациентов с дефицитом плотных гранул тромбоцитов, в которых и содержатся полифосфаты, наблюдаются нарушения контактной активации [33,41]. Противоречивость данных о способности тромбоцитов стимулировать контактную активацию [41,75] можно объяснить высвобождением С1-ингибитора (сериновых протеаз) при активации тромбоцитов [33].

Еще одним интересным наблюдением является тот факт, что поверхности, вызывающие сильный эффект контактной активации, характеризуются также низкой адгезией тромбоцитов к ним [5]. Однако получаемый в ходе контактного пути тромбин активирует слабо адгезированные тромбоциты и способствует их необратимой адгезии к поверхности, что, в свою очередь положительно влияет на контактную активацию, так как активированные тромбоциты экспонируют полифосфаты на своей поверхности. Следовательно, только одна адгезия тромбоцитов (характерна для гидрофобных поверхностей) или контактная активация (на гидрофильных поверхностях) *in vivo* не приводят к формированию стабильного тромба. Таким образом, активация тромбоцитов и контактная активация являются синергичными процессами.

СВЯЗЬ С ДРУГИМИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИМИ СИСТЕМАМИ

Генерация калликреина ведет не только к дальнейшей активации фактора XII, но и к серии трех последовательных расщеплений ВМК, приводящих к высвобождению брадикинина [48].

Высвобождаемый брадикинин является медиатором воспалений [9] и способствует повышению проницаемости сосудов и спазмам гладких мышц [21,69]. Кроме того, калликреин стимулирует хемотаксис нейтрофилов [26]: по всей видимости и калликреин, и фактор XIIa необходимы для высвобождения эластазы при дегрануляции нейтрофилов при участии кининогенов, а также для агрегации нейтрофилов [36] и стимуляции образования супероксидазы и перекиси водорода в этих клетках [21]. Активация калликреин-кининовой системы, вызванная фактором XIIa, непосредственно связана с возникновением аллергической гиперчувствительности и анафилактических состояний [14]. Таким образом, ингибирование контактной активации влияет не только на систему гемостаза, но и на ход воспалительных реакций [69], что потенциально может быть нежелательным эффектом антикоагулянтной терапии.

Кроме того, относительно большой пласт исследований посвящен взаимоотношениям внутреннего пути свертывания и системы комплемента. Показана возможность активации C1-фактора комплемента фактором XIIa [76], точнее, его фрагментарной формой [77]. Также есть данные, что калликреин активирует факторы C3 и C5 [21,26,67,78]. Наличие еще одного пути активации системы комплемента представляется биологически обоснованным ввиду важности функции защиты организма от вторжения инородных организмов, кроме того, вполне логично ожидать, что при повреждении сосуда, помимо потребности в остановке кровотечений, возникает потребность в иммунной защите от проникших в рану патогенных бактерий [21].

Также есть данные о непосредственном участии факторов контактного пути в фибринолизе [63]: фактор XII способствует клеточной сигнализации [79], а факторы XIIa [80], XIa [21] и калликреин участвуют в активации плазминогена, высвобождению которого способствует брадикинин [26]. Взаимодействие активированного фактора XII с рецепторами эндотелиальных клеток играет роль в клеточном росте за счет стимуляции митогенеза и ангиогенеза [36,79,81].

Эксперименты на генномодифицированных животных выяснили, что ингибирование факторов контактной активации приводит к снижению негативных эффектов при сепсисе, артрите или энтероколите, позволяя сделать предположение об участии данной системы в защитных реакциях организма и врожденном иммунитете [18].

Все это подтверждает, что поразительное сходство между механизмами активации внутреннего пути свертывания крови, фибринолиза, комплемента и брадикинин-кининовой системы,

не является случайностью. Все эти системы связаны сетью сложных взаимоотношений. Более того, во всех случаях имеет место контактная активация, когда в роли триггера выступает контакт с поверхностью-активатором [68]. Это лишний раз подчеркивает важность изучения системы контактной активации самой по себе, а также ее сложных взаимодействий с другими системами организма, и открывает огромное количество новых возможностей в разработке стратегий лечения различных заболеваний.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на то, что фактор XII известен уже 60 лет, система контактной активации по-прежнему полна загадок. Долгое время изучение этой системы не было приоритетным направлением, так как ее физиологическое значение осталось под вопросом. И лишь недавно, вместе с пониманием роли контактной активации в патологических процессах тромбообразования и воспаления, в изучении внутреннего пути свертывания начался своего рода Ренессанс: в исследованиях *in vitro* были определены роли факторов свертывания и особенности взаимодействия с поверхностью, а *in vivo* модели доказали физиологическое значение контактного пути, благодаря опытам на генномодифицированных мышах и изучению различных вариаций человеческого генома в отношении факторов контактной активации. Исследования системы контактной активации имеют как фундаментально научную значимость, так и непосредственно практическую ценность.

В первую очередь, как уже обсуждалось выше, эксперименты на мышах показали, что дефицит факторов контактного пути не приводит к нарушениям системы гемостаза, при этом защищая от формирования патологических тромбов. Это дает надежду на то, что данные факторы могут оказаться эффективной целью для антикоагулянтной терапии, которая снижает риск тромбоза, при этом не приводя к геморрагическим состояниям. Кроме того, доказанное участие контактной системы в заболеваниях различной природы, от аллергических реакций, сепсиса и эндотоксикоза до острых воспалительных поражений органов тела и реакций отторжения трансплантатов, свидетельствует о том, что терапевтическая значимость изучения контактной активации простирается за пределы лечения нарушений системы свертывания.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований и Правительства Москвы в рамках научного проекта № 15-34-70009 «мол_а_мос», а также при поддержке грантов

Президента РФ для молодых ученых МК-5879.2016.4 и МД-229.2017.4.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. T. G. DeLoughery, *Crit. Care Clin.* **20**, 13 (2004).
2. E. A. Vogler and C. A. Siedlecki, *Biomaterials* **30**, 1857 (2009).
3. F. Müller, D. Gailani, and T. Renné, *Curr. Opin. Hematol.* **18**, 349 (2011).
4. М. Пантелеев и Ф. Атауллаханов, *Клинич. онкогематология* **1**, 50 (2008).
5. C. Sperling, M. Fischer, M. F. Maitz, and C. Werner, *Biomaterials* **30**, 4447 (2009).
6. E. W. Davie and O. D. Ratnoff, *Science* **145**, 1310 (1964).
7. C. R. McMillin, H. Saito, O. D. Ratnoff, and A. G. Walton, *J. Clin. Invest.* **54**, 1312 (1974).
8. J. Geddings and N. Mackman, *Thromb Haemost.* **111**, 570 (2014).
9. T. Renne, A. H. Schmaier, K. F. Nickel, et al., *Blood* **120**, 4296 (2012).
10. M. Pham, G. Stoll, B. Nieswandt, M. Bendszus, and C. Kleinschnitz, *J. Mol. Med.* **90**, 119 (2012).
11. A. Tanaka, Y. Suzuki, K. Sugihara, et al., *Life Sci.* **85**, 220 (2009).
12. E. A. Braat, G. Dooijewaard, and D. C. Rijken, *Eur. J. Biochem.* **263**, 904 (1999).
13. J. W. Weisel and R. I. Litvinov, *Blood* **121**, 1712 (2013).
14. M. Silverberg and A. P. Kaplan, *Methods Enzymol.* **163**, 85 (1988).
15. J. Konings, J. W. Govers-Riemslog, H. Philippou, et al., *Blood* **118**, 3942 (2011).
16. J. P. Riddel, B. E. Aouizerat, C. Miaskowski, and D. P. Lillicrap, *J. Pediatr. Oncol. Nurs.* **24**, 123 (2007).
17. S. de Maat, C. Tersteeg, E. Herczenik, and C. Maas, *Int. J. Lab. Hematol.* **36**, 374 (2014).
18. Y. Wu, *Thromb. J.* **13**, 17 (2015).
19. A. V. Pokhilko and F. I. Ataullakhanov, *J. Theor. Biol.* **191**, 213 (1998).
20. E. Corretge and J.-M. Nigretto, *Thromb. Res.* **59**, 463 (1990).
21. R. W. Colman, *J. Clin. Invest.* **73**, 1249 (1984).
22. G. Tans and J. H. Griffin, *Adv. Exp. Med. Biol.* **156**, 63 (1983).
23. D. L. Tankersley and J. S. Finlayson, *Biochemistry* **23**, 273 (1984).
24. R. C. Wiggins, B. N. Bouma, C. G. Cochrane, and J. H. Griffin, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **74**, 4636 (1977).
25. K. Chatterjee, J. L. Thornton, J. W. Bauer, et al., *Biomaterials* **30**, 4915 (2009).
26. B. Ghebrehiwet, M. Silverberg, and A. P. Kaplan, *J. Exp. Med.* **153**, 665 (1981).
27. F. Citarella, H. te Velhuis, M. Helmer-Citterich, and C. E. Hack, *Thromb. Haemost.* **84**, 1057 (2000).
28. F. Citarella, W. A. Willemin, Y. T. Lubbers, and C. E. Hack, *Br. J. Haematol.* **99**, 197 (1997).
29. G. Tans, T. Janssen-Claessen, J. Rosing, and J. H. Griffin, *Eur. J. Biochem.* **164**, 637 (1987).
30. R. Zhuo, C. Siedlecki, and E. Vogler, *Biomaterials* **28**, 4355 (2007).
31. V. A. Terentyeva, A. N. Sveshnikova, and M. A. Panteleev, *J. Theor. Biol.* **382**, 235 (2015).
32. A. Golas, C.-H. Josh Yeh, H. Pitakjakpipop, et al., *Biomaterials* **34**, 607 (2013).
33. N. V. Zakharova, E. O. Artemenko, N. A. Podoplelova, et al., *PLoS One* **10**, e0116665 (2015).
34. J. T. Dunn and A. P. Kaplan, *J. Clin. Invest.* **70**, 627 (1982).
35. S. D. Revak, C. G. Cochrane, B. N. Bouma, and J. H. Griffin, *J. Exp. Med.* **147**, 719 (1978).
36. R. W. Colman and A. H. Schmaier, *Blood* **90**, 3819 (1997).
37. D. Gailani and G. J. Broze, *Blood* **82**, 813 (1993).
38. J. D. Shore, D. E. Day, P. E. Bock, and S. T. Olson, *Biochemistry* **26**, 2250–8 (1987).
39. R. Zhuo, C. A. Siedlecki, and E. A. Vogler, *Biomaterials* **27**, 4325–4332 (2006).
40. A. Golas, P. Parhi, Z. O. Dimachkie, et al., *Biomaterials* **31**, 1068–79 (2010).
41. M. S. Chatterjee, W. S. Denney, H. Jing, and S. L. Diamond, *PLoS Comput. Biol.* **6**, e1000950 (2010).
42. F. Citarella, G. Fedele, D. Roem, et al., *Blood* **92**, 4198 (1998).
43. R. Engel, C. M. Brain, J. Paget, et al., *J. Thromb. Haemost.* **12**, 1513 (2014).
44. S. de Maat and C. Maas, *J. Thromb. Haemost.* **14**, 1498 (2016).
45. T. Brunnée, C. La Porta, S. R. Riddigari, et al., *Blood* **81**, 580 (1993).
46. F. van der Graaf, G. Tans, B. N. Bouma, and J. H. Griffin, *J. Biol. Chem.* **257**, 14300 (1982).
47. E. Stavrou and A. H. Schmaier, *Thromb. Res.* **125**, 210 (2010).
48. M. A. Griep, K. Fujikawa, and G. L. Nelsestuen, *Biochemistry* **24**, 4124 (1985).
49. M. A. Griep, K. Fujikawa, and G. L. Nelsestuen, *Biochemistry* **25**, 6688 (1986).
50. R. Røjkjaer and I. Schousboe, *Eur. J. Biochem.* **243**, 160 (1997).
51. J. H. Griffin, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **75**, 1998 (1978).
52. M. Samuel, R. A. Pixley, M. A. Villanueva, et al., *J. Biol. Chem.* **267**, 19691 (1992).
53. M. Silverberg and A. P. Kaplan, *Methods Enzymol.* **163**, 68 (1988).
54. K. Gregory and D. Basmadjian, *Ann. Biomed. Eng.* **22**, 184.
55. N. J. Mutch, E. K. Waters, and J. H. Morrissey, *J. Thromb. Haemost.* **10**, 2108 (2012).
56. J. Jesty, J. Rodriguez, and E. Beltrami, *Pathophysiol. Haemost. Thromb.* **34**, 71 (2005).

57. C. Loiseau, H. N. Randriamahazaka, and J. M. Nigretto, *Eur. J. Biochem.* **239**, 692 (1996).
58. G. Motta, R. Rojkaer, A. A. Hasan, et al., *Blood* **91**, 516 (1998).
59. J. L. MacQuarrie, A. R. Stafford, J. W. Yau, et al., *Blood* **117**, 4134 (2011).
60. J. M. Nigretto, E. Corretge, and M. Jozefowicz, *Biomaterials* **10**, 449 (1989).
61. A. Golas, C.-H. J. Yeh, C. A. Siedlecki, and E. A. Vogler, *Biomaterials* **32**, 9747 (2011).
62. L. Faxälv, J. Hume, B. Kasemo, and S. Svedhem, *J. Colloid Interface Sci.* **364**, 582 (2011).
63. A. Krishnan, Y.-H. Liu, P. Cha, et al., *J. Roy. Soc. Interface* **3**, 283 (2006).
64. K. Chatterjee, Z. Guo, E. A. Vogler, and C. A. Siedlecki, *J. Biomed. Mater. Res. A* **90**, 27 (2009).
65. Z. Guo, K. M. Bussard, K. Chatterjee, et al., *Biomaterials* **27**, 796 (2006).
66. D. C. Morrison and C. G. Cochrane, *J. Exp. Med.* **140**, 797 (1974).
67. G. Fuhrer, M. J. Gallimore, W. Heller, and H. E. Hoffmeister, *Blut.* **61**, 258 (1990).
68. A. Gruber, *Thromb. Res.*, S45 (2014).
69. M. L. van Montfoort and J. C. M. Meijers, *Thromb. Haemost.* **110**, 223 (2013).
70. H. H. Versteeg, J. W. Heemskerk, M. Levi, and P. H. Reitsma, *Physiol Rev.* **93**, 327 (2013).
71. S. Pfeiler, S. Massberg, and B. Engelmann, *Thromb. Res.* **133**, S35 (2014).
72. P. N. Walsh and J. H. Griffin, *Blood.* **57**, 106 (1981).
73. S. L. Taylor, V. Wahl-Jensen, A. M. Copeland, et al., *PLoS Pathog.* **9**, e1003470 (2013).
74. L. F. Brass, *Chest.* **124**, 18S (2003).
75. L. Faxälv, N. Boknäs, J. O. Ström, et al., *Blood* **122**, 3818 (2013).
76. A. P. Kaplan, B. Ghebrehiwet, M. Silverberg, and J. E. Sealey, *Crit. Rev. Immunol.* **3**, 75 (1981).
77. R. L. Heimark, K. Kurachi, K. Fujikawa, and E. W. Davie, *Nature* **286**, 456 (1980).
78. R. G. DiScipio, *Immunology* **45**, 587 (1982).
79. S. L. Gonias, *Blood* **115**, 4979 (2010).
80. G. H. Goldsmith, H. Saito, and O. S. Ratnoff, *J. Clin. Invest.* **62**, 54 (1978).
81. A. H. Schmaier, *Thromb. Res.* **133**, S41 (2014).

Biophysical Mechanisms of Contact Activation of Blood Plasma Coagulation

V.A. Terent'eva* **, A.N. Sveshnikova* ** ** ***** , and M.A. Pantelev* ** *** *******

**Faculty of Physics, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory 1/2, Moscow 119991, Russia*

***Dmitry Rogachev Federal Research and Clinical Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, ul. Samory Mashela 1, Moscow, 117997 Russia*

****Center for Theoretical Problems of Physico-Chemical Farmacology, ul. Kosygina 4, Moscow, 119991 Russia*

*****Pirogov Russian National Research Medical University, ul. Ostrovityanova 1, Moscow, 117997 Russia*

******Faculty of Biological and Medical Physics, Moscow Institute of Physics and Technology, Institutskii per. 9, Dolgoprudny, Moscow Region, 141700 Russia*

This paper reviews biochemical and biophysical mechanisms of blood coagulation activation that occurs upon contact of blood with plasma and leads via a cascade of enzyme reactions to polymerization of fibrin and formation of blood plasma clot that permeates the primary platelet aggregate and results in the formation of a dense hemostatic plug. Presently, there is no consistent opinion on the processes that occur upon contact of blood plasma with surfaces despite a significant number of experimental and theoretical works on the subject. In this review, we discuss the role of plasma protein factor XII and different surfaces in the onset of contact pathway *in vivo* and *in vitro*. A contemporary picture of molecular events that form the basis of the process, is presented.

Keywords: blood coagulation, intrinsic pathway, contact activation, factor XII, factor XI, kallikrein, kininogen