

# 1. Hemostasmekanismer

*Fariba Baghaei*

Hemostas kan definieras som en serie komplexa fysiologiska processer med syfte att upprätthålla balansen i ett slutet cirkulationssystem vid en kärlskada. Hemostas brukar indelas i tre olika steg; den primära hemostasen, den humoral koagulationen (sekundär hemostas) samt fibrinolysen. Dessa händelser inträffar dock mer eller mindre samtidigt vid en kärlskada.

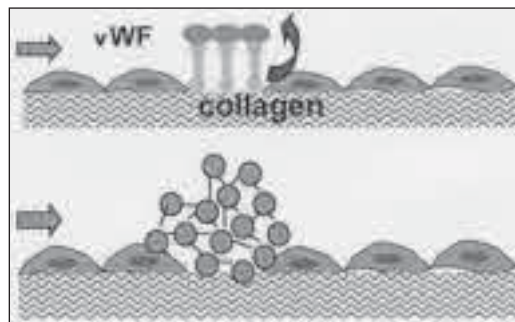
## Primär hemostas – bildning av trombocytplugg

Den primära hemostasen innefattar vasokonstriktion, trombocytaktivering och trombocyttaggregation. Trombocyternas viktigaste funktion är att förhindra blödning från skador i kärlväggen genom att binda till det skadade endotelcellslagret (adhesion) och bilda aggregat på platsen för skadan. Trombocyterna har flera funktionellt viktiga receptorer (glycoproteiner). Vid trombocytaktivering sker en formförändring av trombocyterna som medför exponering av flera olika glycoproteinreceptorer med olika egenskaper och negativt laddade fosfolipider på trombocytmembranet.

## Trombocytaktivering och trombocytadhesion

Trombocytaktivering och adhesion är komplexa processer som initieras när trombocyter kommer i kontakt med subendotelial vävnad som innehåller bland annat kollagen vilket blottläggs vid en kärlskada. Interaktionen mellan trombocyter och subendotelet är beroende av glykoprotein (GP)-receptorerna på

ytmembranet. Trombocytadhesionen sker antingen genom direkt bindning av trombocyterna via receptorerna GP VI och  $\alpha 2\beta 1$  till kollagen eller via indirekt bindning till kollagen med hjälp av von Willebrand faktor (vWF). Vid hög shear stress (den kraft som blodkomponenter utövar på kärlväggen) övergår globulär vWF till en bivalent ”stavformad” kedjestruktur som med en domän binder till trombocytreceptor GP Ib medan en annan domän i vWF molekylen binder till exponerat kollagen. vWF fungerar således som ett ”klister”, vilket bromsar trombocyterna som därmed ansamlas i anslutning till kärlskadan (Figur 1). Eftersom vWF är bundet till faktor VIII kommer även denna koagulationsfaktor att ansamlas i anslutning till kärlskadan.



**Figur 1.** Schematisk bild av den primära hemostasen. En kärlskada leder till att trombocyterna via kollagen och vWF adhererar till det skadade området. Kollagen aktiverar sedan trombocyterna vilket leder till en formförändring och frisättning av aktiva substanser t ex ADP som kan aktivera nya trombocyter. Trombocyternas formförändring resulterar också i att fosfolipider och nya receptorer t.ex. fibrinogenreceptorn GPIIb/IIIa exponeras på trombocytens ytmembran. Slutligen aggregerar trombocyterna genom att de via fibrinogen och den exponerade fibrinogenreceptorn binds samman till en primär trombocytplugg som täcker det skadade området.

Fysiologiska agonister som aktiverar trombocyterna är arakidonsyra, trombin, kollagen, adenosindifosfat (ADP), adrenalin och tromboxan A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>). Aktiveringen sker genom att en agonist binder till en specifik receptor på trombocyten yta och initierar en lång och mycket komplex kedja av intracellulära kemiska reaktioner. Detta leder i slutändan till att trombocyten genomgår en formförändring och negativt laddad fosfolipid samt nya glycoproteinreceptorer mobiliseras i och på trombocyternas yttermembran. Trombocytaktiveringen leder också till frisättning av en rad aktiva substanser från trombocyternas granula. ADP är en av dessa som frisätts från Dens Granula vilket medför aktivering av flera trombocyter i närheten via ADP-receptorerna P2Y<sub>1</sub> och P2Y<sub>12</sub>. Många av trombocyternas receptorer är i dag väl karakteriserade vilket gjort det möjligt att utveckla nya läkemedel som hämmar funktionen av dessa receptorer och därmed trombocytaktivering. Clopidogrel (Plavix), Prasugrel (Effient) och Ticagrelor (Brilique) är exempel på sådana läkemedel som hämmar ADP-receptorn P2Y<sub>12</sub> vilket effektivt förhindrar den naturliga ADP-inducerade trombocytaktivering och aggregationen. Vid trombocytaktivering frisätts också arakidonsyra från det fosfatidylinositol som finns i cellmembranens inre skikt. Arakidonsyra metaboliseras av enzymet cyklooxygenas till prostaglandinendoperoxider. TxA<sub>2</sub> bildas under denna process i trombocyterna som även i mycket låga koncentrationer framkallar trombocyttaggregation och vasokonstriktion. Som framgår ovan är reaktionen beroende av enzymet cyklooxygenas som kan hämmas irreversibelt av acetylsalicylsyra (ASA) vilket i sin tur leder till defekt trombocyttaggregation.

Nya forskningsrön har visat att oberoende av den aktivering som sker via exponering av trombocyterna till subendotelialt kollagen, aktiveras de också av trombin som i sin tur har bildats via aktiveringen av koagulationen.

## Trombocyttaggregation

Trombocyttaggregation är det sista steget i den primära hemostasen. Förutom ovan nämnda aktiveringsreceptorer innehåller trombocytmembranet även latent receptorer som aktiveras och exponeras i samband med att trombocyterna aktiveras. Exempel på sådana receptorer är GPIIb/IIIa och P-selektin. GPIIb/IIIa är receptor för fibrinogen vilket gör att två trombocyter kan sammanbindas via en bivalent fibrinogenmolekyl. Eftersom det finns ett stort antal GPIIb/IIIa receptorer på trombocytan kan varje trombocyt bindas till ett stort antal andra aktiverade trombocyter och därigenom bilda trombocytpluggen. Abciximab (ReoPro), eptifibatid (Integrilin) och tirofiban (Aggrastat) är läkemedel som hämmar trombocyternas fibrinogenreceptor GPIIb/IIIa och används bland annat för att förhindra trombocyttaggregation vid kranskärlsvidgning (PCI) med inläggning av stent.

Trombocytpluggen som bildas i anslutning till en kärlskada är relativt instabil och behöver därför stabiliseras och förankras i anslutning till skadan, en process som ombesörjs av den humoral koagulationen, vilket i slutändan leder till att ett nät av fibrintrådar bildas, som likt ett armeringsjärn stabiliserar trombocytpluggen.

## Koagulationens inledningsfas

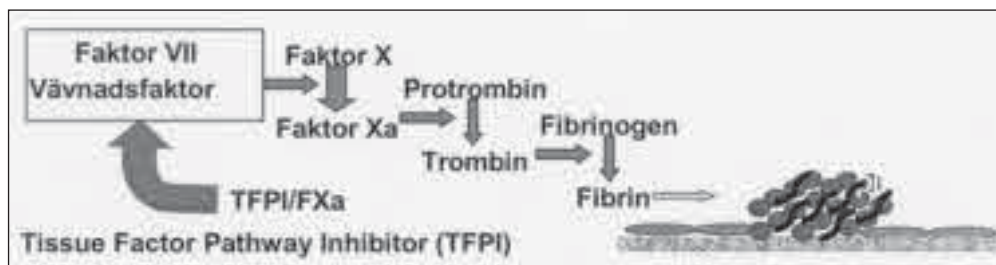
Flera av koagulationsfaktorerna cirkulerar i blodet i inaktiv form (proenzym) och kan vid behov aktiveras genom en proteolytisk klyvning. Aktiverade koagulationsfaktorer betecknas med "a" t ex F VIIa. Liksom aktiveringen av trombocyter initieras koagulationsprocessen när blodet kommer i kontakt med subendotelial vävnad innehållande bland annat vävnadsfaktor, ofta förkortad TF efter det engelska uttrycket tissue factor. Exponerad TF binder FVIIa, som under normala betingelser är det enda koagulationsenzymet som cirkulerar i plasma i sin aktiva form. FVIIa har i sin fria form en mycket låg proteolytisk aktivitet som potentiellt kraftigt när den binds till TF.

Det bildade komplexet mellan FVIIa och TF aktiverar sedan FIX till FIXa och FX till FXa som i sin tur aktiverar protrombin (FII) till trombin (FIIa). Relativt snabbt kommer dock FXa att bindas till, och hämmas av, Tissue Factor Pathway Inhibitor (TFPI). Detta binära komplex binder i sin tur till det binära komplexet FVIIa/TF, en reaktion som bildar ett stort komplex mellan fyra proteinmolekyler. På detta sätt sker snabbt en effektiv fysiologisk hämning av koagulationens inledningsfas. Vid heparinbehandling frisätts TFPI från endotelceller och det är troligt att en del av heparinets antitrombotiska effekt härrör från frisatt TFPI. Den lilla mängd trombin som bildats innan koagulationens inledningsfas stängs av med hjälp av TFPI, är dock tillräcklig för att spjälka fibrinogen till fibrin varvid koagelbildningen påbörjas runt den primära trombocytpluggen. Denna del av koagulationen, som tidigare benämndes ”externa vägen”, kallas i dag för koagulationens inledningsfas, en process som sker på TF-bärande celler (till exempel fibroblaster) och genererar endast små mängder trombin (Figur 2).

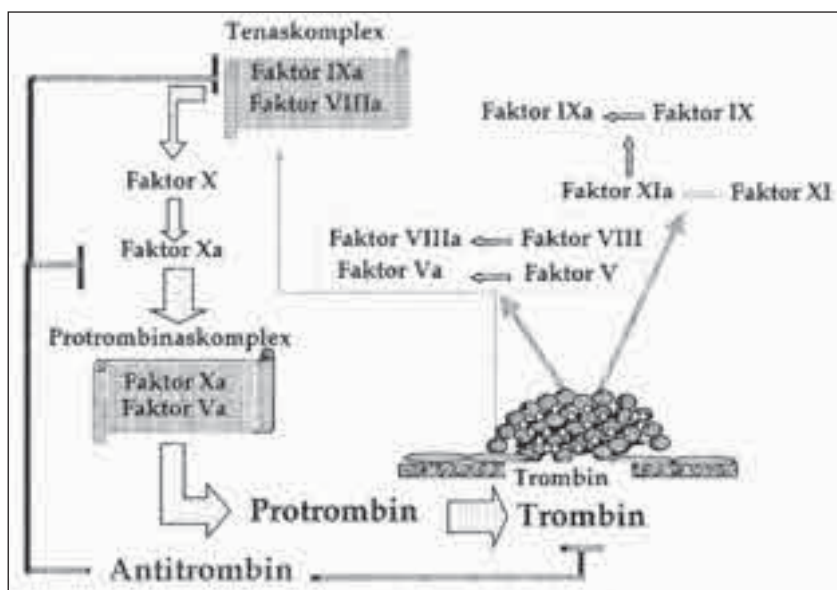
### Koagulationens förstärkningsfas

Koagulationens förstärkningsfas sker på de aktiverade trombocyternas yta. Små mängder trombin som genererats under inledningsfasen, aktiverar faktorerna VIII, V och XI. Faktor

IXa, som aktiverats av FXIa, binder samtidigt tillsammans med sin aktiverade cofaktor, FVIIa och Ca<sup>2+</sup> till exponerade fosfolipider på aktiverade trombocyter. På detta sätt lokaliserar koagulationsprocessen till den primära trombocytpluggen. Det bildade komplexet mellan FIXa och FVIIa, även kallat tenaskomplexet, är en potent aktivator av FX. I likhet med FIXa binder sedan FXa tillsammans med sin cofaktor, FVa och Ca<sup>2+</sup>, till trombocyternas fosfolipider och bildar där ett komplex som benämns protrombinaskomplexet. Detta komplex, slutligen, klyver protrombin till trombin. Likt en kärnreaktion, genererar varje aktiverad koagulationsfaktor i denna process flera nya aktiverade faktorer för att i slutändan säkerställa att en hög trombinkoncentration genereras i anslutning till den primära kärlskadan. Dessutom aktiverar trombin nya trombocyter som frisätter ADP som i sin tur aktiverar ännu fler trombocyter. Den primära trombocytpluggen kommer på detta sätt att växa samtidigt som den förstärks av nya fibrintrådar. Denna del av koagulationen som tidigare kallades ”interna vägen” kallas nu koagulationens förstärkningsfas. Den viktigaste endogena hämmaren av koagulationens förstärkningsfas är antitrombin. Namnet till trots är även antitrombin en potent hämmare av aktiverad FX, samt till viss del även de aktiverade faktorerna IX och XI.



**Figur 2.** Koagulationens inledningsfas som initieras när faktor VIIa kommer i kontakt med vävnadsfaktorn som exponeras vid en kärlskada. Denna fas avslutas med att trombin omvandlar fibrinogen till fibrin som stabiliserar den primära trombocytpluggen.



**Figur 3.** Koagulationens förstärkningsfas. Det trombin som genererats under inledningsfasen aktiverar koagulationsfaktorerna XI, VIII och V. Via tenaskomplexet (FIXa och dess kofaktor FVIIIa) och protrombinaskomplexet (FXa och dess kofaktor FVa) genereras under denna fas en stor mängd trombin inuti den primära trombocytpluggen.

Med denna nya syn på koagulationssystemet anser man att trombingenereringen sker i två faser. Först bildas, via inledningsfasen, en liten mängd trombin som klyver fibrinogen till fibrin varvid ett fibrinkoagel bildas runt den primära trombocytpluggen. Den lilla mängd trombin som bildas under denna fas kommer också att aktivera koagulationsfaktorerna VIII, V och XI. Via denna förstärkningsmekanism bildas en mycket stor mängd trombin i en andra fas vars huvudsakliga lokalisering är inuti det primära fibrinkoaglet. Denna pol av trombin, som benämns fibrineller clotbundet trombin, är skyddad från inaktivering av antitrombin. En viktig funktion för det fibrinbundna trombinet är att stabilisera det nybildade blodkoaglet. Detta sker genom att trombin aktiverar koagulationsfaktor XIII, som är ett enzym som genererar kovalenta bindningar mellan fibrintrådarna (Figur 3).

### Protein C systemet

Protein C är nyckelkomponenten i vårt endogena antikoagulationssystem, som har till uppgift att stänga av trombingenereringen när tillräckligt mycket trombin har bildats. Liksom i koagulationssystemet spelar trombin en central roll även i protein C systemet genom att det aktiverar protein C till aktiverat protein C (APC). Den vanliga formen av trombin, som spjälkar fibrinogen till fibrin, kan dock inte utföra denna aktivering utan dess struktur måste "moduleras", vilket sker genom att trombin binds till trombomodulin som är ett membranprotein på endotelcellerna. I och med denna inbindning ändras trombinets proteolytiska egenskaper och i stället för fibrinogen klyvs nu protein C till APC. APC binder till en cofaktor protein S och APC/protein S-komplexet har egenskapen att inaktivera koagulationsfaktorerna FVa och FVIIIa via proteolys. De för en normal koagulation essentiella tenas- och protrombinas komplexen kommer därmed att försvinna från den färdiga

trombytan varvid trombingenereringen nedregleras. Eftersom endotelcellerna i små blodkärl har en mycket högre täthet av trombomodulin på sin yta än endotelceller i större kärl, så är protein C systemet speciellt viktigt som antikoagulas i mikrocirkulationen.

### Det fibrinolytiska systemet

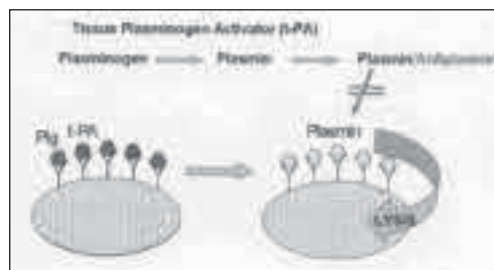
Det fibrinolytiska systemet är till sin uppbyggnad betydligt enklare än koagulationssystemet. I plasma finns ett proenzym, plasminogen, som vid behov aktiveras till det proteolytiskt aktiva enzymet plasmin. Urokinase och vävnadsaktivatorn, vanligen förkortad t-PA efter det engelska namnet tissue-type plasminogen activator, är två endogena enzymer som kan aktivera plasminogen till plasmin. Båda dessa enzymer, samt streptokinas, ett enzym som utvinns från streptokocker, användes som läkemedel för att snabbt lysera en trombos, som har uppstått i till exempel ett av hjärtats kranskärl, vid massiv lungemboli samt vid vissa fall av ischemisk stroke.

I likhet med koagulationen som sker lokalt på ytan av aktiverade trombocyter i den primära trombocytpluggen är även fibrinolysprocessen lokaliserat till det blodkoagel som skall lösas upp av plasmin. När blodkoaglet börjar lyseras genom att fibrinrådarna spjälkas av plasmin så kommer aminosyran lysin att exponeras på ytan av blodkoaglet. Dessa exponerade lysinmolekyler fungerar som en "receptor" som binder både plasminogen och t-PA. På detta sätt blir det en hög, lokal plasminogenhalt och t-PA koncentrationen kommer att bli hög i anslutning till koaglet som skall lyseras. Det fysiologiska förloppet är således att plasminogen omvandlas av t-PA till plasmin lokalt i anslutning till ett fibrin-koagel som skall lyseras.

Både t-PA men framför allt plasmin kan om de tillåts cirkulera fritt i blodet spjälka livsviktiga enzymer. För att skydda oss mot detta regleras det fibrinolytiska systemet av två viktiga hämmare,  $\alpha_2$ -antiplasmin och plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1). Bundet till lysin i fibrinkoaglet är dock både t-PA och

plasmin skyddade från inaktivering av hämmarna.

Den stora mängd trombin som bildas under förstärkningsfasen har en viktig reglerande roll i den fibrinolytiska processen. En tidigare känd effekt av trombin är att det aktiverar F XIII, ett enzym (transglutaminas) som tvärbinder polymeriserade fibrinrådar varvid det bildade koaglet får en "tredimensionell" struktur med en betydligt större hållfasthet. Förutom F XIII aktiverar trombin också fibrinolysregulatorn Thrombin Activatable Fibrinolysis Inhibitor (TAFI). TAFI är ett enzym som syntetiseras i levern och spjälkas av lysin från fibrinkoaglet. Som tidigare nämnts har lysin en viktig roll i den fibrinolytiska processen eftersom denna aminosyra binder både plasminogen och t-PA till fibrinkoaglet. Mängden plasminogen och t-PA som binds in till fibrinkoaglet kommer därmed att reduceras varvid även plasmingenereringen minskar och den fibrinolytiska processen nedregleras. Trombinets aktivering av TAFI förstärks i närvaro av trombomodulin.



**Figur 4.** Schematisk bild av det fibrinolytiska systemet som visar hur plasminogen och t-PA binds till aminosyran lysin i ett fibrinkoagel. Plasmingenereringen sker därför lokalt i anslutning till det koagel som skall lyseras.

## FAKTARUTA

En kärlskada repareras primärt genom att trombocyter adhererar till det skadade kärlet där de bildar en primär trombocytplugg. Denna instabila trombocytplugg stabiliseras genom armering med fibrinrädar som snabbt bildas genom aktivering av koagulationen som leder till generering av trombin. För att dessa processer inte skall bli generellt utbredda så binds koagulationsfaktorerna in till ytan av aktiverade trombocyter och fibrinbildningen sker därför lokalt i anslutning till kärlskadan.

Bildningen av fibrin balanseras dessutom av hämmare. Bildat fibrin spjälkas sedan av plasmin för att återställa cirkulationen.

Trombin har en mycket central roll i koagulations- och fibrinolysprocessen. Trombin initierar koagelbildningen genom att spjälka fibrinogen till fibrin samt förstärker sin egen generering genom att aktivera ett flertal koagulationsfaktorer. Eftersom trombin också är en mycket potent aktivator av trombocyter, kommer dessa att aktiveras och aggregera till och förstärka det bildade fibrinkoaglet. Genom att aktivera F XIII och TAFI påverkar trombin även fibrinkoaglets stabilitet.

Slutligen kan trombin nedreglera sin egen bildning genom att det binder till trombomodulin varvid protein C aktiveras till APC, ett proteolytiskt enzym som inaktiverar de två kofaktorerna FVa och F VIIIa.

## Referenser

1. Coughlin SR. Protease-activated receptors in vascular biology. *Thromb Haemost.* 2001;86:298-307.
2. Bouma B, Marx PF, Mosnier LO, Meijers CM. Thrombin-Activatable Fibrinolysis Inhibitor (TAFI) State of the art article. *Thromb Res.* 2001;101:329-54.
3. Mann KG. Biochemistry and Physiology of blood coagulation. *Thromb Haemost.* 1999; 82:165-74.
4. Mutch NJ, Robbie LA, Booth NA. Human thrombi contain an abundance of active thrombin. *Thromb Haemost.* 2001;86:1028-34.
5. Medved L, Nieuwenhuisen W. Molecular mechanism of initiation of fibrinolysis by fibrin. *Thromb Haemost.* 2003;89(3):409-19.
6. Dubois C, Panicot-Dubois L, Merrill-Skoloff G, Furie B, Furie BC. Glycoprotein VI-dependent and independent pathways of thrombus formation in vivo. *Blood.* 2006;107:3902-6.
7. Furie B, Furie BC. Mechanisms of thrombus formation. *N Engl J Med.* 2008;359:938-49.
8. Hoffman M, Monroe DM 3rd. A cell-based model of hemostasis. *Thromb Haemost.* 2001;85:958-65.