

# Antytrombina III — podstawowy inhibitor krzepnięcia krwi

Zakład Chorób Koni Bydgoskiego Oddziału Instytutu Weterynarii w Puławach,  
Al. Powstańców Wlkp. 10, 85-090 Bydgoszcz

W warunkach fizjologicznych prawidłowa hemostaza oparta jest na delikatnym balansowaniu pomiędzy procesami wykrzepiania i fibrynolizy. Zakłócenie tej równowagi prowadzi do nadmiernego wykrzepiania lub nasilonej fibrynolizy. Enzymy proteolityczne krążą we krwi jako zymogeny do momentu, aż zostaną przekształcone w formy aktywne. Kaskadowa aktywacja poszczególnych proteaz serynowych prowadzi w konsekwencji do powstania skrzepu fibrynowego. W następstwie uszkodzenia śródbłonna naczyń krwionośnych dochodzi do zainicjowania wewnątrz- lub zewnątrzpochoźnego mechanizmu wykrzepienia krwi. Obydwie te drogi prowadzą do aktywacji czynnika X, a ten wspólnie z fosfolipidami płytek krwi oraz przy udziale czynnika Va powoduje przekształcenie protrombiny w trombinę. Potem następuje konwersja fibrynogenu w fibrynę, a po jej polimeryzacji wytwarza się skrzep. Jednocześnie aktywowywane są enzymy fibrynolityczne.

Aktywne proteazy serynowe mogą być blokowane przez kilka protein osocza, do których należą: antytrombina III (AT III), Alfa<sub>1</sub>-antytrypsyna, Alfa<sub>2</sub>-antypłazmina, Alfa<sub>2</sub>-makroglobulina, C1 inhibitor, białko C, inhibitory aktywatorów plazminogenu (5, 11, 14). Głównym fizjologicznym inhibitorem krzepnięcia krwi jest antytrombina III. Związane jest z nią ok. 75% całkowitej aktywności antytrombinowej osocza. Zadaniem biologicznym AT III jest utrzymywanie płynności krwi. Antytrombina III zawarta w 1 ml prawidłowego osocza zobojętnia ok. 2000 jednostek trombiny, która wykrzepia 2 litry 0,1% fibrynogenu w ciągu 15 s. Synteza AT III zachodzi w wątrobie, ale wykazano również obecność tego inhibitora w komórkach śródbłonna naczyniowego, w makrofagach i niektórych narządach (11).

## Właściwości fizykochemiczne

Antytrombina III jest glikoproteidem o masie cząsteczkowej 58 000 — u człowieka, 57 000 — u wołu, 53 000 — u konia, 64 000 — u szczura. Nie traci ona aktywności w temp. -20°C przez szereg miesięcy i w temp. +4°C przez kilka tygodni. Ogrzewanie w temp. 56°C w ciągu 3 min. nie obniża aktywności tego inhibitora. Enzym ten nie wytrąca się z euglobulinami w pH 5,3. Ulega natomiast wytrąceniu przy 40% nasyceniu siarczanem amonu. Adsorbuje się na fosforanie wapnia i wodorotlenku glinu (11, 13).

## Mechanizm działania

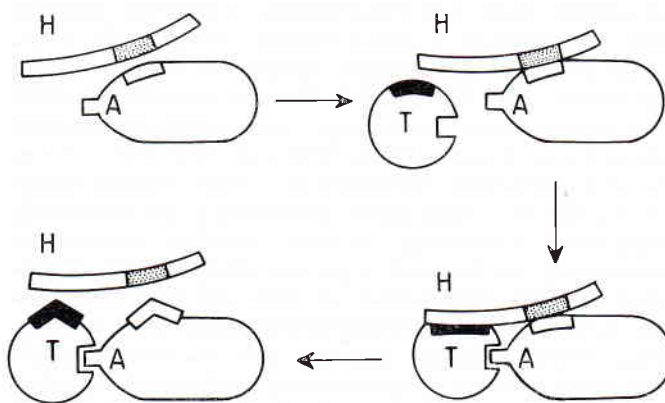
Antytrombina III hamuje aktywność trombiny i innych proteaz o serynowych miejscach katalitycznych. Należą do nich czynniki: VIIa, IXa, Xa, XIa, XIIa, kalikreina i plazmina. Antytrombina III unieczynnia także niektóre inne proteazy nie związane z hemostazą (4, 5, 11, 12, 13). W zależności od stopnia powinowactwa AT

III do proteaz można wyróżnić dwie sytuacje:

- hamowanie progresywne przez samą AT III (dotyczy czynników IXa, Xa, XIa i XIIa). Dodanie heparyny znacznie przyspiesza ten proces,
- inaktywowanie jedynie w obecności heparyny (dotyczy czynnika VIIa i kalikreiny) (11).

Antytrombina III inaktywuje trombinę i inne serynowe proteazy reagując z nimi w stosunku molowym 1:1 (1, 11). Najlepiej poznano mechanizm tworzenia połączenia AT III z trombiną. W obecności heparyny powstawanie kompleksu antytrombiny III z trombiną jest o wiele szybsze. Przebieg unieczynniania trombiny przez AT III w obecności heparyny przedstawia ryc. 1.

Przylączenie heparyny powoduje zmiany konformacyjne łańcucha polipeptydowego antytrombiny III, w wyniku których miejsce wiążące staje się dostępne dla enzymu. Kompleks AT III — heparyna reaguje w sposób natychmiastowy z trombiną. Powstaje kompleks heparyna — AT III — trombina. W kompleksie tym heparyna połączona jest z antytrombiną III i trombiną, do której wykazuje również powinowactwo. Po utworzeniu tego trójczłonowego kompleksu dochodzi do dalszych zmian konformacyjnych cząsteczki antytrombiny i enzymu, w wyniku których wiązanie z heparyną ulega osłabieniu i związki ten odłącza się od kompleksu. Dzięki temu jedna cząsteczka heparyny katalizuje wiązanie znacznej liczby cząsteczek antytrombiny III z trombiną (11, 12). Określenie stężenia AT III w osoczu jest bardzo istotne, jeśli zamierzamy podjąć leczenie heparyną. Przy niskiej aktywności AT III skuteczność heparyny może być niewielka. Natomiast jeśli poziom AT III w osoczu pacjenta jest stosunkowo wysoki, to istnieje możliwość znacznego obniżenia terapeutycznej dawki heparyny, co potwierdziły również badania własne na koniach (6, 9, 12).



Ryc. 1. Udział heparyny w tworzeniu kompleksu antytrombina III — trombina (11)

Objaśnienia: H — heparyna, A — antytrombina III, T — trombina.

## Rola w fizjologii i patologii

Zawartość AT III powinno się oznaczać w osoczu, gdyż w surowicy krwi ilość tego inhibitora jest o 25% niższa. Różnica ta jest spowodowana związaniem części antytrombiny III przez trombinę tworzącą się w czasie krzepnięcia krwi. W osoczu krwi noworodków poziom AT III jest niższy i dopiero w 6 miesiącu życia osiąga wartości takie jak u dorosłych. W wieku starszym ilość AT III obniża się. U kobiet poziom jest niższy, niż u mężczyzn. Aktywność AT III u osób dorosłych w warunkach fizjologicznych podlega niewielkim wahaniom, nie przekraczającym  $\pm 7\%$ . Stwierdzono, że odchylenia aktywności w granicach 20% nie mają istotnego wpływu na przebieg krzepnięcia krwi (11).

Aktywność AT III w osoczu koni, oznaczana w oparciu o trombinę ludzką, jest 2—3-krotnie większa, niż u ludzi. Koń jest tu gatunkiem wyjątkowym, gdyż u innych zwierząt domowych aktywność tego enzymu jest zbliżona do aktywności w osoczu ludzi (1, 6). Nie stwierdzono u koni znaczącego wpływu rasy, płci i wieku na aktywność tego inhibitora (1, 7).

Zdarzają się osobniki z wrodzonym lub nabytym niedoborem AT III. Defekt ten może być uwarunkowany genetycznie lub mogą pojawiać się we krwi nieaktywne, patologiczne cząstki. Dziedziczne niedobory AT III występują u ludzi, u 1 na 5000 osobników. Nabyte niedobory tego inhibitora są spowodowane upośledzeniem syntezy, zużyciem, inaktywacją lub utratą z moczem. Upośledzenie syntezy ma miejsce w uszkodzeniu miąższu wątroby i po leczeniu estrogenami (1, 11). Nadmierne zużycie występuje w rozsianym śródnaczyniowym wykrzepianiu (DIC — Disseminated Intravascular Coagulation), w chorobie zakrzepowej, po rozległych operacjach i urazach, w zakażeniach bakteryjnych, w nowotworach i niektórych innych chorobach (1, 2, 3, 5, 7, 8, 10, 11). Inaktywacji AT III może dokonać elastaza leukocytów i metaloproteazy jadu żmii. Utrata z moczem ma miejsce w przypadkach uszkodzenia kłębków nerkowych i w nerczycy (1, 2, 3, 8).

Opisano u ludzi pojedyncze przypadki wrodzonego wysokiego stężenia AT III i towarzyszącej mu skazy krwotocznej. Aktywność AT III zwiększa się w czasie leczenia doustnymi antykoagulantami, jak również po podaniu sterydów anabolicznych, po dokonaniu przeszczepu nerek i w stanach zapalnych (11).

U zwierząt domowych oznaczanie aktywności AT III może być w wielu przypadkach cennym badaniem diagnostycznym. Koń jest zwierzęciem, u którego choroby często przebiegają z zaburzeniami krzepnięcia krwi. U tego gatunku wspomniane zaburzenia zwykle przyjmują postać DIC (1, 5, 7, 10). Nie ma swoistych testów do diagnozowania rozsianego wewnątrznaczyniowego wykrzepiania. Często trzeba wykonać cały komplet badań, aby stwierdzić występowanie tego rodzaju zaburzeń. Każdy stan organizmu prowadzący do zaburzenia dynamicznej równowagi między układem krzepnięcia i fibrynolizy na korzyść tego pierwszego może doprowadzić do DIC. Niezależnie od tego, czy aktywacja dotyczy zewnątrz- czy wewnątrzpochodnego toru wykrzepiania, efekt końcowy jest ten sam — uruchomienie kaskadowej reakcji enzymatycznej, kończącej się powstaniem fibryny. W momencie, kiedy zjawisko to nie jest ograniczone do niewielkiego regionu układu krwionośnego, zaczyna być groźne dla życia. Ten sam jakościowo proces krzepnięcia krwi zlokalizowany na przy-

kład w miejscu po uderzeniu jest nader pożądanym, ponieważ zatrzymuje krwawienie. Jeśli jednak dojdzie do przeniknięcia tkankowych aktywatorów układu zewnątrzpochodnego (np. w wyniku zmiążdżenia kończyny lub toksyn bakteryjnych uszkadzających śródbłonek naczyń — aktywacja toru wewnątrzpochodnego) do krążenia systemowego, następuje lawinowa reakcja nadmiernego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego. Powstające skrzepiny utrudniają mikrokrążenie, gromadzą się i zaczopowują naczynia krwionośne najpierw małego, a później większego kalibru. Aby w wyniku niedotlenienia nie doszło do martwicy narządowej, uruchamiany jest układ fibrynolityczny, mający za zadanie rozpuszczenie powstałych skrzepin. Nie zawsze jednak możliwa jest wystarczająca kompensacja tego układu. W międzyczasie „zużywa się” pula czynników krzepnięcia niezbędnych do prawidłowej hemostazy i dochodzi do krwawień, które mogą być groźne dla życia, bowiem organizm sam nie może ich zatrzymać (2, 5, 8, 10).

Uważa się, że na DIC wskazuje spadek liczby płytek krwi poniżej 100 000/ul, hipofibrynogenemia, spadek aktywności AT III i pojawienie się w krążeniu produktów degradacji fibrynogenu (8). Tego typu zaburzenia krzepnięcia stwierdza się najczęściej u ludzi i psów. U koni nie jest to tak jednoznaczne, gdyż np. w przebiegu kolki na tle erlichiozy nie zanotowano wyraźnego spadku aktywności AT III (10). Wielu badaczy zajmujących się schorzeniami przewodu pokarmowego u koni wykazało znaczny spadek aktywności antytrombiny III w przypadkach skrętów, wgłębień, zatkań i przemieszczeń w obrębie jelita grubego. Uważają oni, że oznaczanie aktywności AT III jest cennym badaniem prognostycznym, pozwalającym ocenić szanse przeżycia chorego zwierzęcia. Jeśli aktywność AT III jest niższa o 60% w stosunku do normy, to szanse zwierzęcia na przeżycie, mimo interwencji chirurgicznej, są niewielkie (1, 5, 7, 10).

U ludzi w ostrych stanach DIC w leczeniu stosuje się dożylnie wlewy koncentratu AT III. Koniom i innym zwierzętom domowym zalecane jest przetaczanie świeżej krwi bogatopłytkowej, która nie tylko pomaga wyrównać niedobór AT III, ale i dostarcza innych proteaz serynowych (2, 5, 10).

## Piśmiennictwo

- Bernard W., Morris D. D., Divers T. J., Ramberg C.: *Am. J. vet. Res.* 48, 366, 1987.
- Blauhut B., Necek S., Kramar H., Vinazzer H., Bergmann H.: *Thromb. Res.* 19, 775, 1980.
- Blauhut B., Necek S., Vinazzer H., Bergmann H.: *Thromb. Res.* 27, 271, 1982.
- Borsodi A., Narasimhan T. R.: *Br. J. Haemat.* 39, 121, 1978.
- Darien J., Potempa J., Moore J. N., Travis J.: *Equine vet. J.* 23, 211, 1991.
- Dąbrowska J.: *Mat. IX Kongr. PTNW*, t. 1, s. 83, Olsztyn 1992.
- Johnston I. B., Physic-Sheard P., Crane S.: *Am. J. vet. Res.* 50, 1751, 1989.
- Kałużny Z.: *Medycyna* 2000, 2, 26, 1990.
- Mamont B.: *Kard. Pol.* 26, 55, 1983.
- Morris D. D., Messick J., Whitlock H., Palmer J., Ward M. V., Feldman B. F.: *Am. J. vet. Res.* 49, 1030, 1988.
- Roszkowska-Jakimiec W., Żurawski P., Ostrowski L., Worowski K.: *Diagn. Lab.* 19, 143, 1983.
- Roszkowska W., Worowski K.: *Post. Hig.* 38, 73, 1984.
- Travis J., Salvesen G. J.: *Ann. Rev. Biochem.* 52, 655, 1983.
- Zawilska K., Psuja P., Sowier J.: *Prz. lek.* 44, 410, 1987.

Adres autora: lek. wet. Jolanta Dąbrowska, ul. Ujejskiego 4/137, 85-090 Bydgoszcz