

РОЛЬ ФАКТОРА ХАГЕМАНА ПРИ ОСТРОМ БРУЦЕЛЛЕЗЕ

**Саркисян Н. С. ORCID ID 0000-0003-3512-5738,
Куличенко А. Н. ORCID ID 0000-0002-9362-3949**

*Федеральное казенное учреждение здравоохранения
«Ставропольский противочумный институт» Федеральной службы по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека,
Ставрополь, Российская Федерация, e-mail: nyshik25@yandex.ru*

Ввиду сохраняющейся значимости проблемы бруцеллеза необходимо проведение комплексных исследований, направленных на изучение патогенетических механизмов заболевания, включая анализ маркера воспаления и гемостаза (фактора Хагемана). Цель исследования – определить патофизиологическое значение фактора Хагемана при остром бруцеллезе. Объект исследования – больные с диагнозом «острый бруцеллез» ($n = 32$), проходившие стационарное лечение в инфекционной больнице. Материалом для исследования служила плазма крови от больных острым бруцеллезом. В контрольную группу были включены 34 чел., не переболевших бруцеллезом и не вакцинированных против этой инфекции. Определение активности фактора свертывания крови XII осуществлено клоттинговым методом на автоматическом анализаторе гемостаза STA Compact. Отмечено снижение фактора свертывающей системы крови при остром бруцеллезе по сравнению с группой контроля. Угнетение активности фактора Хагемана вследствие взаимодействия с липополисахаридом возбудителя бруцеллеза приводит к снижению коагуляционного потенциала системы гемостаза. Относительно длительное сохранение бруцелл в организме приводит к невыраженному (умеренному) воспалению и сопровождается гемостатическим балансом процесса свертывания крови, что свидетельствует о достаточной адаптивной реакции организма, препятствующей развитию тромботических осложнений.

Ключевые слова: бруцеллез, фактор Хагемана, свертывание крови, гемостаз.

THE ROLE OF HAGEMANN FACTOR IN ACUTE BRUCELLOSIS

**Sarkisyan N. S. ORCID ID 0000-0003-3512-5738,
Kulichenko A. N. ORCID ID 0000-0002-9362-3949**

*Federal State Institution of Healthcare
“Stavropol Anti-Plague Institute” of the Federal Service for the Oversight of Consumer Protection and Welfare,
Stavropol, Russian Federation, e-mail: nyshik25@yandex.ru*

Due to the continuing importance of the problem of brucellosis, it is necessary to conduct comprehensive studies aimed at studying the pathogenetic mechanisms of the disease, including analysis of the inflammation and hemostasis marker (Hageman factor). The aim of this study was to determine the pathophysiological significance of the Hageman factor in acute brucellosis. The study included patients diagnosed with acute brucellosis ($n = 32$) undergoing inpatient treatment at an infectious diseases hospital. Blood plasma from patients with acute brucellosis served as the study material. The control group consisted of 34 individuals who had not had brucellosis and were not vaccinated against this infection. The concentration of coagulation factor XII was determined using the clotting method on an STA Compact automated hemostasis analyzer. A decrease in coagulation factor XII was observed in acute brucellosis compared to the control group. Inhibition of Hageman factor activity due to interaction with lipopolysaccharide from the brucellosis pathogen leads to a decrease in the coagulation potential of the hemostatic system. The relatively long-term persistence of brucellosis in the body leads to mild (moderate) inflammation and is accompanied by a hemostatic balance in the blood clotting process, which indicates a sufficient adaptive response of the body, preventing the development of thrombotic complications.

Keywords: brucellosis, Hageman factor, blood coagulation, hemostasis.

Введение

Бруцеллез – зоонозная инфекция с разными путями передачи, характеризующаяся незавершенным фагоцитозом, персистенцией возбудителя и склонностью к хроническому течению заболевания.

Незавершенный фагоцитоз при бруцеллезной инфекции приводит к развитию бактериемии и гематогенной циркуляции эндотоксина. Взаимодействие между защитными механизмами макроорганизма и компонентами бруцелл (липополисахарид) инициирует каскад реакций, приводящих к уничтожению патогена или его длительному сохранению в макрофагах и клетках ретикулоэндотелиальной системы. Развитие системного воспалительного ответа на фоне эндотоксинемии является одним из ведущих факторов патофизиологии течения бруцеллеза [1].

Центральным звеном, связывающим инфекционный процесс с нарушениями гемостаза и воспалением, выступает контактная система (представленная фактором XII, прекалликреином и высокомолекулярным кининогеном), основным компонентом которого является фактор Хагемана (фактор XII).

Фактор XII – гликопротеин, синтезируемый преимущественно в печени. При контакте с отрицательно заряженными поверхностями фактор XII активируется с образованием активной – XIIa. Он запускает внутренний путь свертывания крови, активируя фактор XI. XIIa превращает прекалликреин плазмы в калликреин, который, в свою очередь, высвобождает брадикинин из высокомолекулярного кининогена. Брадикинин является мощным медиатором воспаления, который увеличивает проницаемость сосудов, вызывает их расширение и стимулирует хемотаксис, эти эффекты имеют ключевое патофизиологическое значение при септических и аллергических состояниях [2].

Липополисахариды (ЛПС), являясь ключевыми компонентами мембраны бактерий, запускают активацию XII фактора свертывания крови, обеспечивая прямую связь между бактериальной инфекцией, процессами свертывания крови и развитием воспаления [3].

ЛПС могут влиять на свертываемость крови, в том числе за счет активации контактного пути [4, 5]. Структурная гетерогенность ЛПС различных возбудителей оказывает влияние на механизмы активации свертывания крови [4].

Бактерии могут активировать контактную систему либо путем прямого связывания, либо опосредованно, высвобождая медиаторы воспаления [6]. Активация контактной системы фактором XII инициирует внутренний путь свертывания крови и калликреин-кининовую систему, что приводит к запуску процессов свертывания и воспаления [7].

Дефицит фактора XII препятствует тромбообразованию у животных, не вызывая при этом чрезмерных кровотечений [5]. Экспериментальные данные доказывают, что именно активная форма фактора (XIIa) играет ключевую роль в патогенезе тромбообразования [8]. Ингибирование или дефицит фактора XII ограничивает активацию прекалликреина, тем самым подавляя провоспалительные каскады и снижая риск тромботических осложнений [9].

Дефицит фактора свертывания крови XII может ингибировать процесс образования тромбов, что непосредственно зависит от вида патогена и структуры его антигенных детерминант. Существует предположение, что фактор XII способен распознавать патогены, действуя как рецептор, связываясь с определенными участками на поверхности микроорганизмов [10].

Фактор Хагемана является маркером, связывающим процессы гемостаза, фибринолиза и воспаления. Активированный фактор XII запускает внутренний путь свертывания крови, через калликреин-кининовую систему участвует в образовании брадикинина, регуляции проницаемости сосудов и ответа на воспаление и инфекцию, а также прямо или опосредованно через калликреин активирует плазминоген, запускающий процесс фибринолиза.

Таким образом, фактор свертывания крови XII вызывает различные прокоагулянтные и провоспалительные реакции, которые по-разному влияют на инфекционный процесс.

Цель исследования – определение патофизиологического значения фактора Хагемана при остром бруцеллезе.

Материал и методы исследования

Объект исследования – клинический материал от 32 пациентов с лабораторно подтвержденным острым бруцеллезом. Образцы крови были получены при поступлении больных в стационар. Группу контроля составили здоровые доноры ($n = 34$), не переболевшие бруцеллезом и не вакцинированные против этой инфекции.

Отбор и рандомизацию больных бруцеллезом производили в соответствии с индивидуальными регистрационными картами больных (истории болезни), с учетом классификации клинических форм бруцеллеза по Г. П. Рудневу (1955). Все больные острым бруцеллезом имели среднюю степень тяжести течения болезни, в фазе компенсации.

Критерии исключения из исследования: острые инфекционные заболевания, обострение тяжелых соматических заболеваний, опухоли любой локализации, аутоиммунные заболевания, диффузные заболевания соединительной ткани.

Среди обследованных преобладали мужчины (70 %), при этом различие показателей в зависимости от пола в обследуемых группах не имело статистической значимости, что позволило объединить их в одну группу без учета половой принадлежности. Возраст обследованных находился в диапазоне от 18 до 69 лет.

Все обследуемые дали информированное добровольное согласие на участие в настоящих исследованиях (согласно Федеральному закону «Об основах охраны здоровья граждан в РФ» от 21 ноября 2011 г. № 323-ФЗ, ред. от 30 декабря 2021 г.). Клинические исследования одобрены локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Ставропольский

государственный медицинский университет» Минздрава России (заключение локального этического комитета № 109 от 19 мая 2022 г.).

Преаналитический этап лабораторных исследований проводили в соответствии с существующими приказами и рекомендациями Министерства здравоохранения РФ по контролю качества лабораторных исследований. Образцы венозной крови забирали утром натощак в пробирку с 3,8 % (0,129 М) раствором цитрата натрия в соотношении 1:9 с забираемой кровью и доставляли в лабораторию. Обеззараживание исследуемого материала (крови) осуществляли в соответствии СанПин 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

Материалом для исследования служила плазма крови. Определение фактора свертывания крови (фактор XII) проводили на автоматическом анализаторе гемостаза STA Compact (Roche diagnostics, Франция), с применением следующих наборов реагентов: STA®-ImmunoDef XII (иммунодефицитная плазма человека, используемая для исследования активности фактора XII в цитратной плазме). Для проведения контроля качества клоттинговых исследований фактора свертывания крови применяли системную универсальную контрольную плазму STA®-System Control N+P (STAGO, Франция, Ирландия). В качестве калибровочной плазмы применили калибратор STA®-Unicalibrator (STAGO, Франция). При проведении анализа анализатор автоматически выполняет необходимое разведение исследуемой плазмы с использованием буфера STA®-Owren-Koller, далее смешивает с STA®-ImmunoDef XII. Затем полученная смесь инкубируется в кювете анализатора при температуре 37 °С для инициации каскада свертывания по внутреннему пути. Анализатор регистрирует время до образования фибринового сгустка оптическим методом. Удлинение этого времени свидетельствует о низкой активности фактора XII в исследуемом образце. Для количественного выражения результата используется калибровочная кривая, построенная с помощью референсной плазмы (STA®-Unicalibrator). Активность фактора XII выражается в процентах.

Для доказательства нормальности распределения данных использовали критерий Колмогорова – Смирнова. По t-критерию Стьюдента оценивалась значимость различия средних значений при уровне $p < 0,05$.

Для моделирования воспалительного ответа, вызванного ЛПС, и оценки влияния на активность фактора Хагемана используют клеточные культуры (моноциты, макрофаги). Методика определения взаимодействия фактора Хагемана и ЛПС грамотрицательных бактерий (на примере *E. coli* 0111:B4) описана в научной публикации [11], которая включает несколько этапов. Отмечено, что для предотвращения спонтанной активации эксперимент необходимо проводить в пластиковых пробирках. На первом этапе проводят подготовку

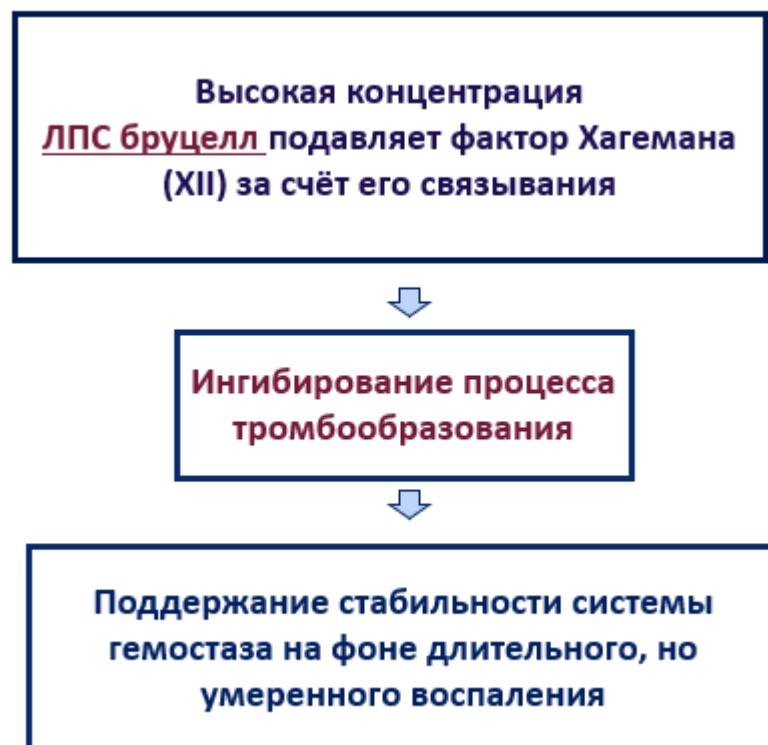
реакционной смеси: препараты ЛПС и очищенного предшественника фактора XII смешиваются в Трис-буферном физиологическом растворе (0,01 М Трис, 0,14 М NaCl, pH 7,4), объем 100 мкл. Далее смесь инкубируют при температуре 37 °C 20 мин для активации фактора Хагемана (XIIa) под воздействием ЛПС. После инкубации к смеси добавляют препараты кроличьего прекалликреина (1,25 г в 100 мкл) и инкубируют в течение 20 мин, с целью оценки способности активированного фактора XIIa превращать прекалликреин в активный калликреин. Ферментативную активность образовавшегося калликреина определяют с помощью хромогенного субстрата. Интенсивность окраски реакционной смеси измеряют при длине волны 253 нм. Данная методика позволяет оценить способность ЛПС к инициации контактной системы свертывания крови.

Результаты исследования и их обсуждение

Анализ данных показал снижение уровня фактора свертывающей системы крови XII у больных острым бруцеллезом $50,6 \pm 14,0$ %, относительно значения группы контроля $95,3 \pm 9,5$ % ($p < 0,05$).

В условиях индуцированного бруцеллами незавершенного фагоцитоза происходит массовое накопление возбудителя, лимфатические узлы становятся резервуарами бактерий. Это создает условия для последующего проникновения патогена в кровоток, вызывая генерализацию инфекции и запуская вторую фазу гематогенного распространения по всему организму [12, 13].

Липополисахарид бруцелл ингибирует активность фактора свертывающей системы крови (XII фактор), вследствие его прямого связывания (рисунок).



Взаимодействие ЛПС Brucella с фактором Хагемана.

Примечание: составлен авторами по результатам данного исследования

Угнетение активности фактора Хагемана вследствие взаимодействия с липополисахаридом возбудителя бруцеллеза приводит к снижению коагуляционного потенциала системы гемостаза. Данный механизм препятствует развитию тромботических осложнений в условиях инфекционного процесса.

Результаты полученных данных соответствуют выводам научного исследования [14], в котором отмечено, что дефицит фактора Хагемана нарушает начальный этап каскада свертывания крови и приводит к снижению риска развития тромбообразования. Фактор свертывания крови XIIa, активирующий калликреин-кининовую систему, опосредованно влияет на формирование иммунновоспалительных процессов в эндотелии сосудов [14].

Липополисахариды способны инициировать активацию фактора XII, тем самым связывая патофизиологические механизмы воспаления с системой свертывания крови [11, 15]. В исследовании [11] отмечено, что жирные кислоты, входящие в состав липополисахарида, могут связывать фактор Хагемана и приводить к активации гемостатических реакций.

Структура липида А ЛПС *Brucella* вследствие гетерогенности в составе жирных кислот обладает низкой токсичностью, это препятствует его полноценному взаимодействию с Toll-подобным рецептором 4 (TLR4) и приводит к снижению интенсивности воспалительной

реакции. Для сравнения, липид А энтеробактерий имеет «каноническую» структуру, что позволяет эффективно связываться с TLR4, вызывая системный воспалительный ответ [12].

Анализ проведенных исследований у больных острым бруцеллезом позволил предположить, что связывание липида А молекулы ЛПС бруцелл с фактором Хагемана ограничивает (сдерживает) внутренний путь коагуляции при сохранении баланса вторичного гемостаза.

Заключение

Впервые проведена оценка ключевого маркера внутреннего пути свертывания крови – XII при остром бруцеллезе, показано понижение его концентрации в плазме крови.

Патофизиологический механизм этого феномена обусловлен особенностью структуры липида А ЛПС бруцелл. Структурная гетерогенность ограничивает его способность активно вовлекать фактор Хагемана в гемостатический каскад, что снижает уровень воспалительных реакций.

Относительно длительное сохранение бруцелл в организме приводит к невыраженному (умеренному) воспалению и сопровождается гемостатическим балансом процесса свертывания крови, что свидетельствует о достаточной адаптивной реакции организма, препятствующей развитию тромботических осложнений. Выявленные особенности взаимодействия фактора Хагемана с ЛПС бруцелл позволили глубже понять механизмы адаптации организма к инфекционному процессу.

Список литературы

1. Пономаренко Д. Г., Саркисян Н. С., Куличенко А. Н. Патогенез бруцеллеза. Анализ иммунопатологической концепции (материал для подготовки лекции) // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2020. Т. 9. № 3. С. 96–105. DOI: 10.33029/2305-3496-2020-9-3-96-105.
2. Didiasova M., Wujak L., Schaefer L., Wygrecka M. Factor XII in coagulation, inflammation and beyond // Cell Signal. 2018. Vol. 51. P. 257–265. DOI: 10.1016/j.cellsig.2018.08.006.
3. Lira A. L., Liu T., Aslan J. E., Puy C., McCarty O. J. T. Lipopolysaccharide supramolecular organization regulates the activation of coagulation factor XII // Biochim. Biophys. Acta Biomembr. 2025. Vol. 1867 (3). P. 184415. DOI: 10.1016/j.bbamem.2025.184415.
4. Lira A. L., Drew K. C., Puy C., Shatzel J. J., McCarty O. J. T. Lipopolysaccharide and Coagulation Factor XII: Biophysics of Contact Activation in Infection // Semin Thromb Hemost. 2025. DOI: 10.1055/a-2716-6782.

5. Weidmann H., Heikaus L., Long A. T., Naudin C., Schlüter H., Renné Th. The plasma contact system, a protease cascade at the nexus of inflammation, coagulation and immunity // *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Res.* 2017. Vol. 1864 (11 Pt B). P. 2118–2127. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2017.07.009.
6. Stroo I., Zeerleder S., Ding C., Luken B. M., Roelofs J., de Boer O. J., Meijers J. C. M., Castellino F. J., van 't Veer C., van der Poll T. Coagulation factor XI improves host defence during murine pneumonia-derived sepsis independent of factor XII activation // *Thromb. Haemost.* 2017. Vol. 117. Is. 8. P. 1601–1614. DOI: 10.1160/TH16-12-0920.
7. Maas C., Renné T. Coagulation factor XII in thrombosis and inflammation // *Blood*. 2018. Vol. 131 (17). P. 1903–1909. DOI: 10.1182/blood-2017-04-569111.
8. Nickel K. F., Long A. T., Fuchs T. A., Butler L. M., Renné T. Factor XII as a Therapeutic Target in Thromboembolic and Inflammatory Diseases // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2017. Vol. 37 (1). P. 13–20. DOI: 10.1161/ATVBAHA.116.308595.
9. Satpathy C., Mishra T. K., Jha A. K. Factor XI and XII inhibitors–Dawn of a new era // *Indian Heart J.* 2025. Vol. 77 (2). P. 122–129. DOI: 10.1016/j.ihj.2025.02.007.
10. Renné T., Stavrou E. X. Roles of Factor XII in Innate Immunity // *Front. Immunol.* 2019. Vol. 10 (2011). DOI: 10.3389/fimmu.2019.02011.
11. Morrison D. C., Cochrane C. G. Direct evidence for Hageman factor (factor XII) activation by bacterial lipopolysaccharides (endotoxins) // *J. Exp. Med.* 1974. Vol. 140. P. 797–811. DOI: 10.1084/jem.140.3.797.
12. Онищенко Г. Г., Куличенко А. Н. Бруцеллез. Современное состояние проблемы. Нижний Новгород: Союзполиграф, 2021. 356 с. ISBN 978-5-6045217-7-9.
13. Бургасова О. А., Кулаков Ю. К., Гизингер О. А. и др. Бруцеллез: монография / под ред. О. А. Бургасовой, Ю. К. Кулакова; Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», Медицинский институт. М.: Русский врач, 2025. 232 с.: цв. ил.; ISBN 978-5-724-0178-1.
14. Mailer R. K., Rangaswamy C., Konrath S., Emsley J., Renné T. An update on factor XII-driven vascular inflammation. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Res. Review*. 2022. Vol. 1869 (1). P. 119166. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2021.119166.
15. Kenne E., Nickel K. F., Long A. T., Fuchs T. A., Stavrou E. X., Stahl F. R., Renné T. Factor XII: a novel target for safe prevention of thrombosis and inflammation // *J. Intern. Med.* 2015. Vol. 278. Is. 6. P. 571–585. DOI: 10.1111/joim.12430.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest: The authors declare that there is no conflict of interest.

Финансирование: Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования.

Financing: The research was performed without external funding.