

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕМОСТАЗА

теоретическая часть

*Кафедра клинической
лабораторной диагностики и
патологической анатомии
ФГБОУ ДПО ИПК ФМБА России*

Поварова Оксана Викторовна

К.М.Н.

**Научный сотрудник НИЛ фармакологии сердечно-
сосудистой системы кафедры фармакологии
ФФМ МГУ имени М.В. Ломоносова**

- Система гемостаза — это **автономная саморегулирующаяся биологическая система**, функциональной особенностью которой являются,
 - с одной стороны, **предупреждение и остановка кровотечения путем поддержания структурной целостности стенок сосудов и быстрого локального тромбирования стенок при повреждениях**,
 - а с другой стороны, **сохранение крови в жидком состоянии и ее объема в кровеносном русле при постоянном транскапиллярном переходе тканевой жидкости и плазмы**.

Система регуляции агрегатного состояния крови (РАСК) включает:

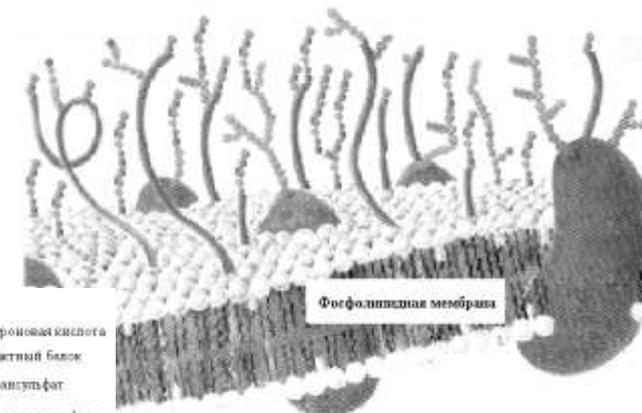
- **а) свертывающую систему крови (сосудисто-тромбоцитарный и коагуляционный гемостаз);**
- **б) противосвертывающую систему крови (антикоагулянты и фибринолиз);**
- **в) нейрогуморальные механизмы регуляции.**

Структурными компонентами гемостаза являются:

- кровеносные сосуды**
- клетки крови**
- плазменные факторы системы крови (процессов коагуляции и фибринолиза); калликреин-кининовая система, система комплемента иммунитета**

Гемостатические функции кровеносных сосудов

- ✓ **Механическое ограничение кровотока.**
- ✓ **Регуляция гемостатических реакций путем синтеза и секреции веществ, участвующих в гемостатических реакциях.**
- ✓ **Представление на поверхности клеток рецепторов, участвующих в гемостатических реакциях**



Механизмы, поддерживающие жидкое состояние крови:

- Гладкая поверхность эндотелия сосудов (предотвращается активация фактора Хагемана, агрегация тромбоцитов).
- Отрицательные заряды стенки сосудов и форменных элементов крови, что обеспечивает отталкивание их друг от друга.
- Стенки сосудов покрыты тонким слоем растворимого фибрина, обладающего способностью адсорбировать активные факторы свертывания крови.
- Большая скорость тока крови (препятствует образованию большой концентрации активаторов гемокоагуляции в одном месте).
- Наличие естественных антикоагулянтов.
- Фибринолиз

АНТИКОАГУЛЯНТЫ ЭНДОТЕЛИЯ

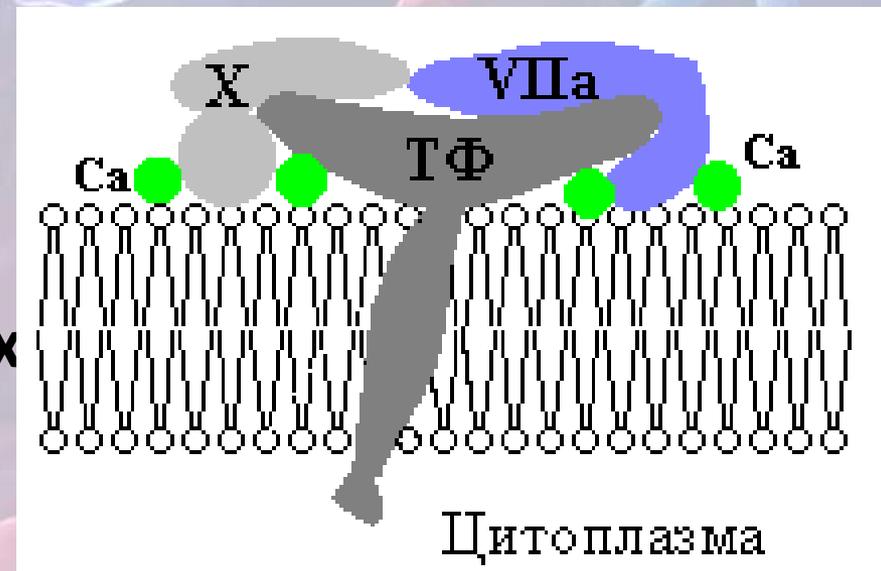
- • Гликокаликс (гепарансульфат)
- • Тромбомодулин
- • Протеин S
- • Простаглицлин, ПГЕ 2, ПГD 2
- • Низкие концентрации эндотелина
- • Оксид азота
- • Тканевой активатор плазминогена
- • Урокиназный активатор плазминогена
- • Эндотелий продуцируемый фактор релаксации
- • Аннексин V
- • Аннексин II
- • Экто-аденозиндифосфатаза

ПРОКОАГУЛЯНТЫ ЭНДОТЕЛИЯ

- • Тканевой фактор
- • Ингибитор активатора плазминогена 1 типа.
- • Фактор Виллебранда.
- • Рецептор для фактора Ха
- • Коллаген IV
- • Индуцированный гипоксией активатор фактора X
- • Липополисахарид индуцированный активатор протромбина.
- • ПГЕ 2
- • Высокие концентрации эндотелина

Субэндотелий

- Обладает выраженными прокоагулянтными свойствами.
- Наличие тканевого фактора (ТФ) на мембранах клеток субэндотелия (макрофагах, фибробластах гладких мышечных клетках).
- Коллаген стимулирует адгезию, активацию и агрегацию тромбоцитов.



Активируют процесс свертывания крови

- **разрушение эндотелия сосудов и более обширные повреждения кровеносных сосудов и тканей.**
- **эмоционально-болевым стресс**
- **внутрисосудистое разрушение форменных элементов крови**

Факторы и маркеры повреждения эндотелия

Социальные факторы

Постоянное нервное перенапряжение

Гипертония

Курение

Гиперхолестеринемия

Сахарный диабет

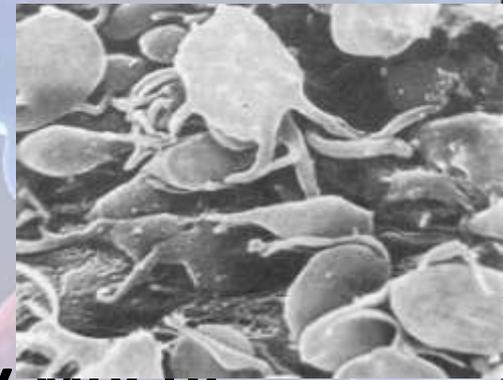
Персистирующие инфекции

• Молекулярные маркеры:

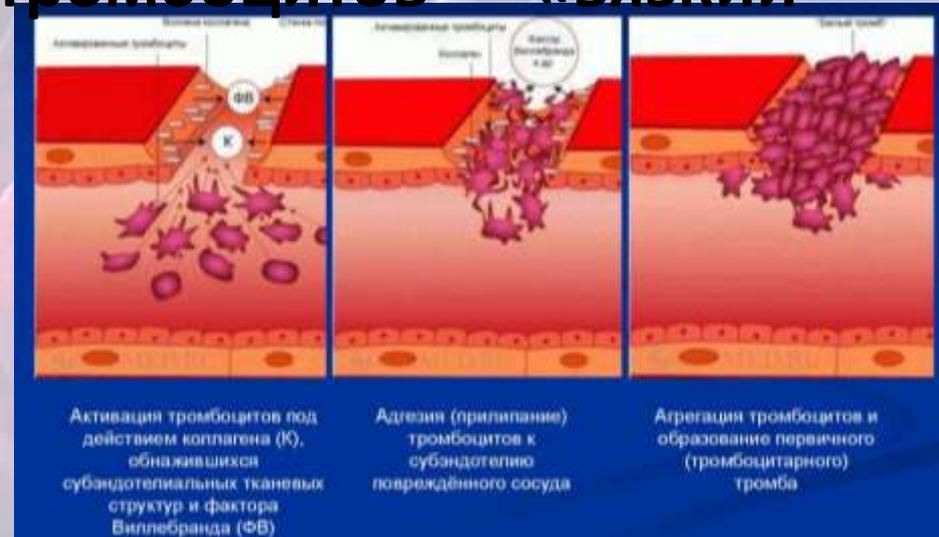
- *Эндотелин*
- *Гомоцистеин*
- *C-реактивный белок*
- *Ангиотензин II*
- *Окись азота – NO*
- *Фибронектин*

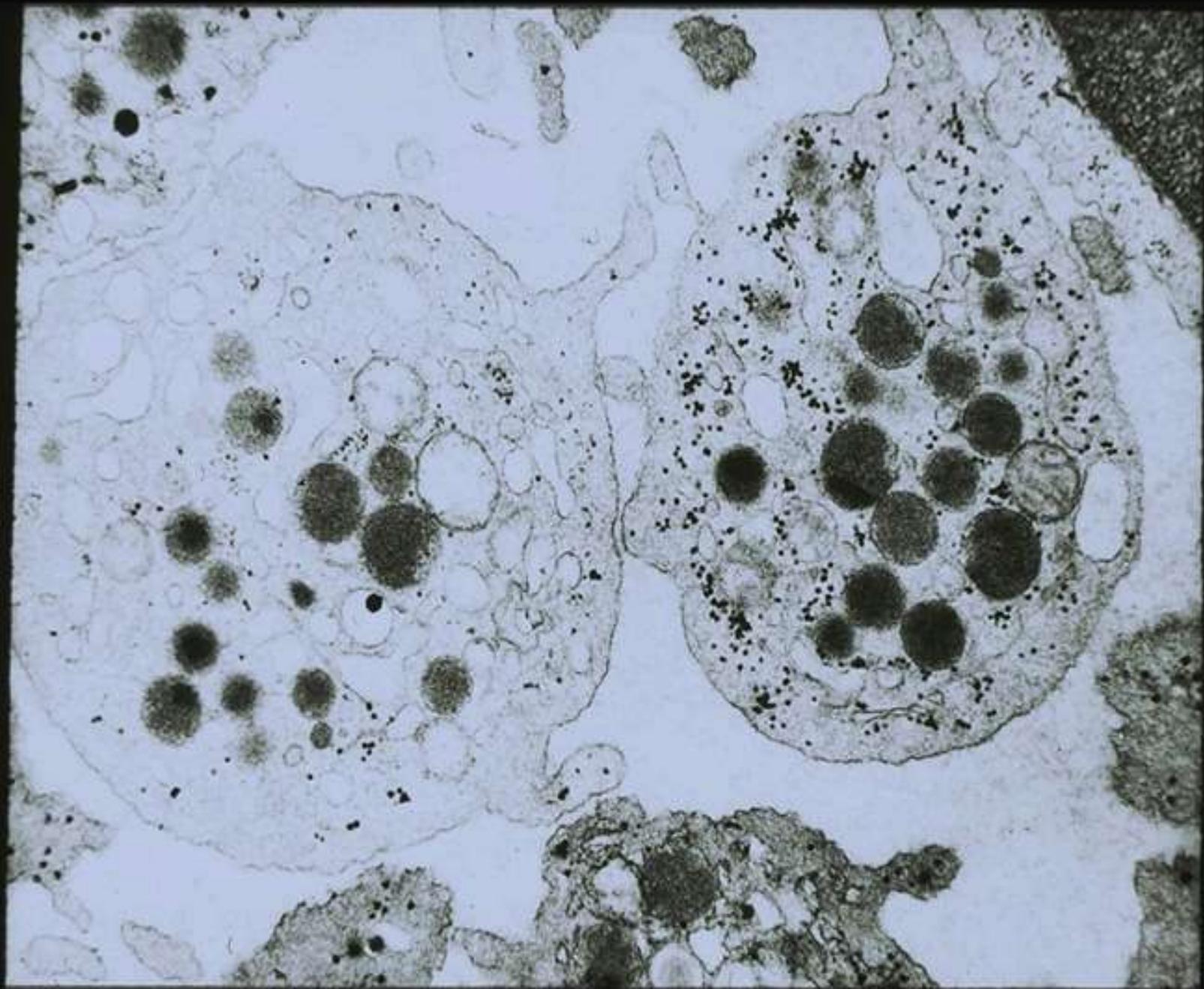
Сосудисто-тромбоцитарный

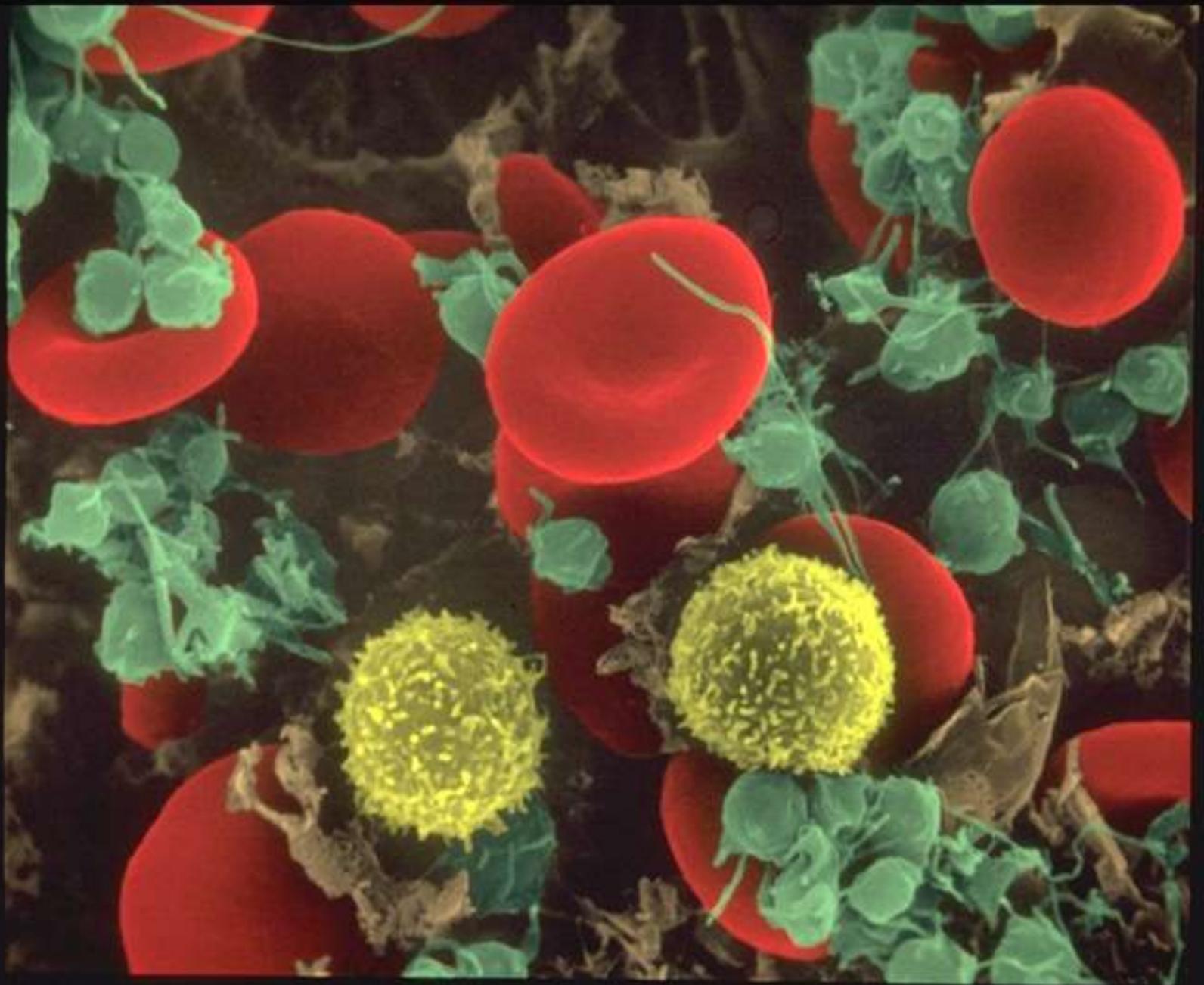
гемостаз - 1-3 мин-
представлен



1. Спазмом поврежденных сосудов.
2. Адгезией (приклеивание) тромбоцитов к месту повреждения.
3. Обратимой агрегацией тромбоцитов.
4. Необратимой агрегацией тромбоцитов — «вязкий метаморфоз кровяных пластинок».
5. Ретракцией тромбоцитарного сгустка.

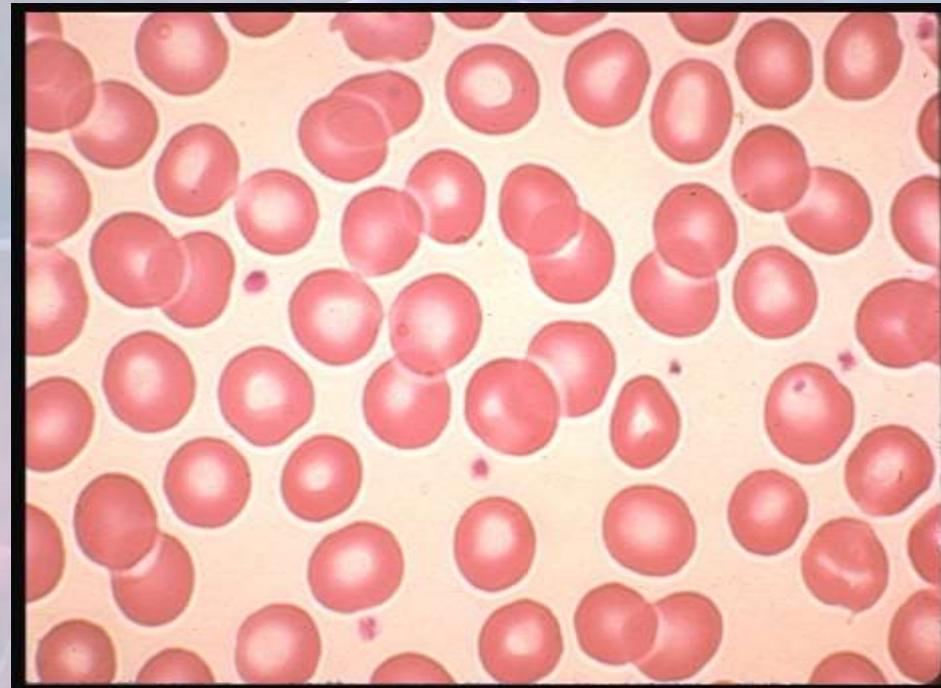






ТРОМБОЦИТЫ

- •Тромбоциты – плоские безъядерные клетки, диаметр 4-8 мкм
- •Образуются из мегакариоцитов костного мозга
- •Содержание тромбоцитов в крови здорового человека составляет 180-420 тыс. в 1 мл
- •Циркуляция в кровотоке – от 5 до 11 суток
- •Разрушение происходит в печени и селезенке



Функции тромбоцитов

1. Формирование первичной тромбоцитарной пробки
2. участие в плазменном гемостазе(фактор P3, фактор P6, прокоагулянты)
3. ангиотрофическая функция
- 4.репаративная функция

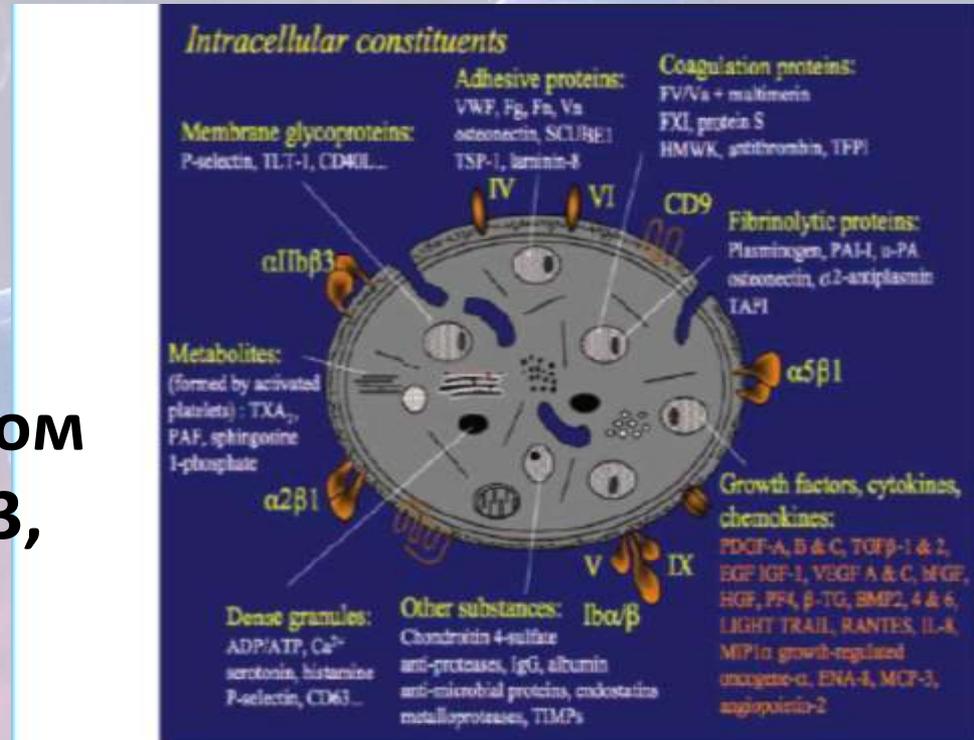
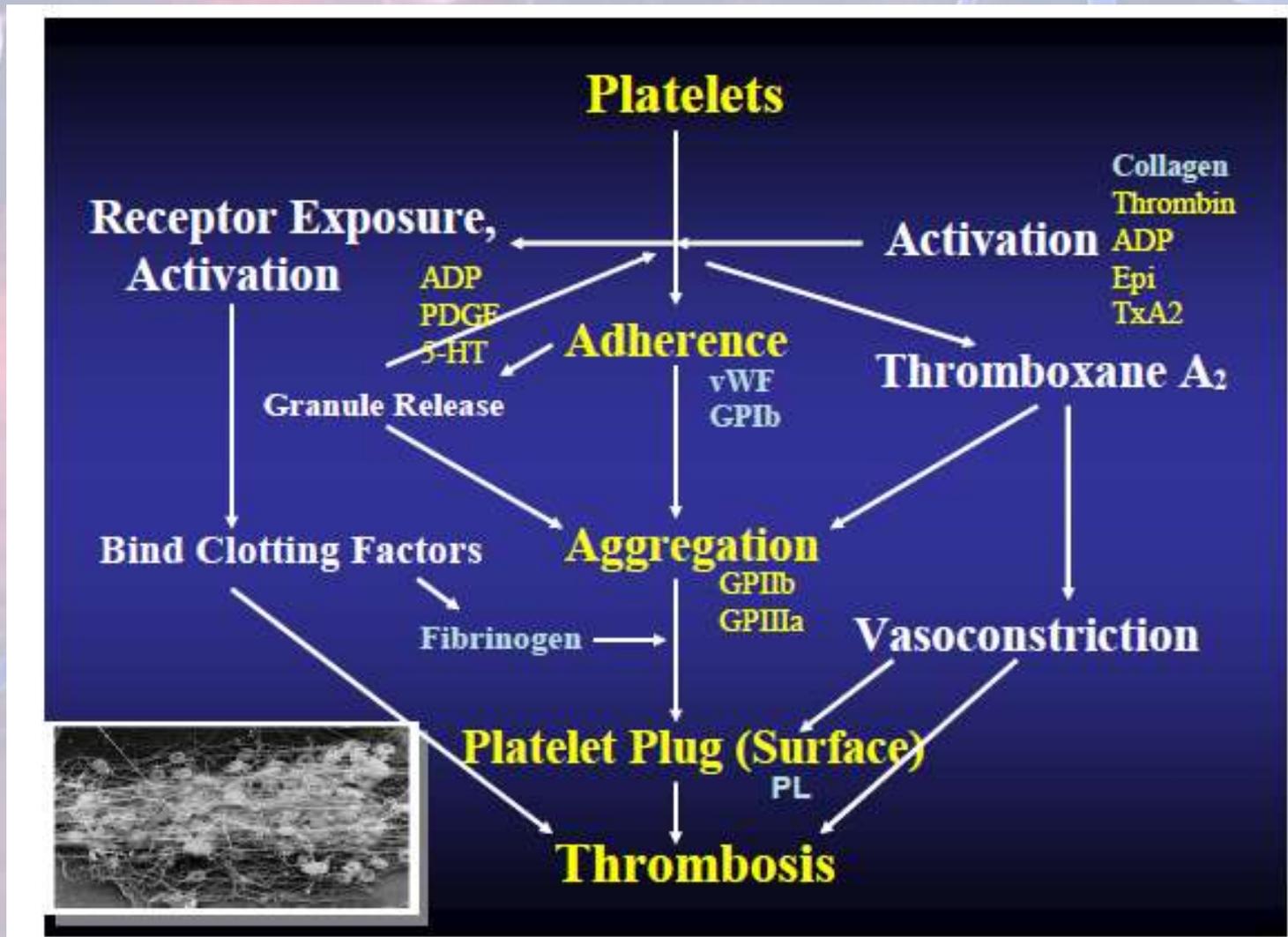


FIG. 1. Platelet storage organelles. PreOoninant are the α -granules of which there are upwards of 50 per platelet. A large number of proteins are stored and released from these organelles; in the figure proteins are grouped by category for convenience, and this is not meant to signify a physiological storage organization. There is, however, some evidence that subpopulations of α -granules may contain discrete populations of proteins (14).

Тромбоцитарные факторы свертывания крови

- **F1** — тромбоцитарный акцелератор-глобулин;
- **F2** — акцелератор тромбина, фибринопластический фактор;
- **F3** — тромбоцитарный тромбопластин, высвобождается после разрушения тромбоцитов
- **F4** — антигепариновый фактор. Связывает гепарин и тем самым ускоряет процесс свертывания крови;
- **F5** — свертывающий фактор, или фибриноген. Определяет адгезию (клейкость) и агрегацию (скупивание) тромбоцитов;
- **F6** — тромбостенин. Обеспечивает ретракцию сгустка. Состоит из субъединиц А и М, подобных актину и миозину. Будучи АТФ-азой, тромбостенин сокращается за счёт энергии, освобождаемой при расщеплении АТФ;
- **F7** — тромбоцитарный котромбопластин;
- **F8** — антифибринолизин;
- **F9** — фибринстабилизирующий фактор;
- **F10** — серотонин. Вызывает сужение сосудов и уменьшение кровопотери;
- **F11** — фактор агрегации — АДФ

Сосудисто-тромбоцитарный гемостаз

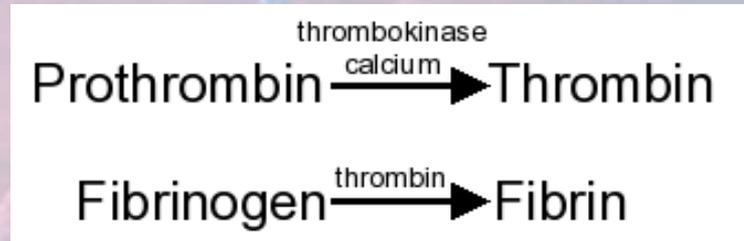


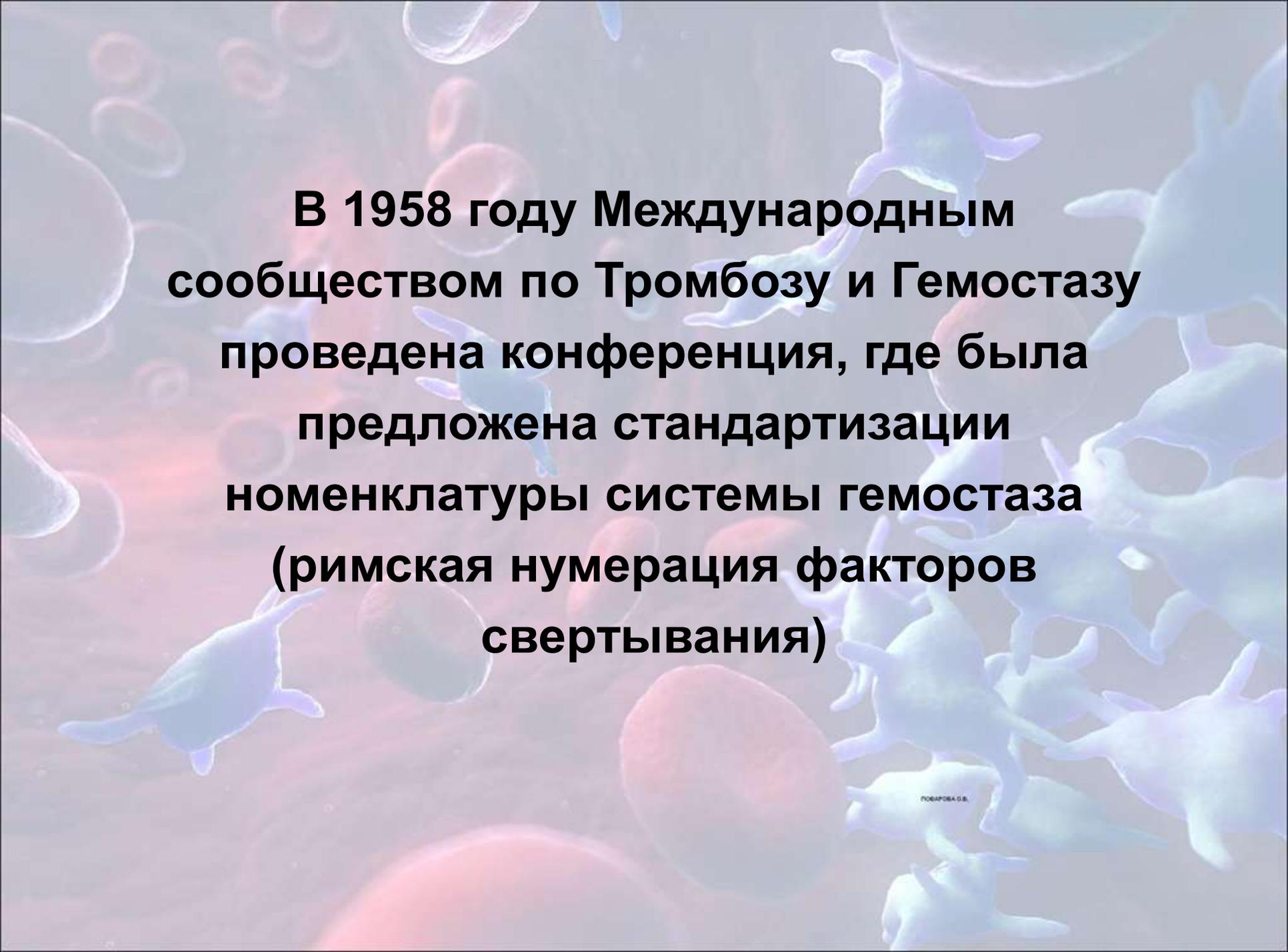
Коагуляционный гемостаз проходит в 3 фазы

- 1. Образование протромбиназы**
- 2. Образование тромбина**
- 3. Образование фибрина**

**Основоположником
современной теории свертывания крови
является профессор Дерптского
(Юрьевского, ныне Тартуского, университета) А. А. Шмидт.
Затем его теорию уточнил П. Моравиц (1904).**

Morawitz, P. Beiträge zur Kenntniss der Blutgerinnung Dtsch Arch klin Med 1904;79:1-28



The background of the slide is a microscopic view of blood. It features numerous red blood cells, which are biconcave discs with a reddish-pink hue, and several platelets, which are small, blue, disc-shaped cells with visible granules and a central nucleus. The overall color palette is a mix of light blue, pink, and white, creating a clinical and scientific atmosphere.

В 1958 году Международным сообществом по Тромбозу и Гемостазу проведена конференция, где была предложена стандартизации номенклатуры системы гемостаза (римская нумерация факторов свертывания)

Таблица 1 (по Долгову В.В. и Свирину П.В., 2005)

Плазменные факторы свертывания крови

Сим-вол фактора	Название	Время полу-жизни, ч	Концентрация в плазме	Гемостатический минимум	Зависимость от витамина К
1	2	3	4	5	6
I	Фибриноген	64-96	2-4 г/л	0,5-1,0 г/л	-
II	Протромбин	48	100-150 мг/л	40%	+
V	Проакцелерин	12	7-10 мг/л	10-15%	-
VII	Проконвертин	4-6	0,4 мг/л	5-10%	+
VIII	Антигемофильный глобулин А	15-20	0,7	30-35%	-
IX	Антигемофильный фактор В	24	3-5 мг/л	20-30%	+
X	Фактор Стюарта-Прауэра	32	8-10 мг/л	10-20%	+
XI	Антигемофильный глобулин С, фактор Розенталя	60-80	3-6 мг/л	10-20%	-
XII	Фактор Хагемана	50-70	25-35 мг/л	<1%	-
XIII	Фибрин-стабилизирующий фактор, трансглутаминаза	40-50	25-35 мг/л	<1%	-
ПК	Прекалликреин, фактор Флетчера		30-50 мг/л	<1%	-
ВМК	Высокомолекулярный кининоген, фактор Фитцджеральда		60-80 мг/л	<1%	-

При разработке первой номенклатуры тканевому фактору был придан символ «фактор III», а ионам кальция, участвующим в свертывании – символ «фактор IV». В настоящее время римская нумерация для них не используется, т.к. тканевый фактор не относится к плазменным белкам, а ионы кальция также не белки. Символом «фактор IV» был ошибочно назван фактор Va, и он также не употребляется.

КАСКАДНАЯ ТЕОРИЯ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ

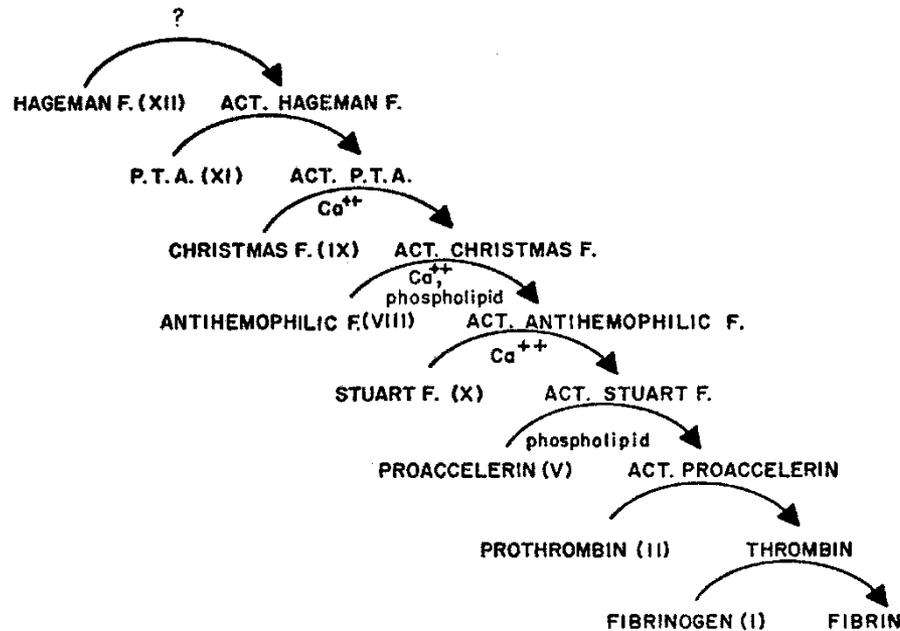
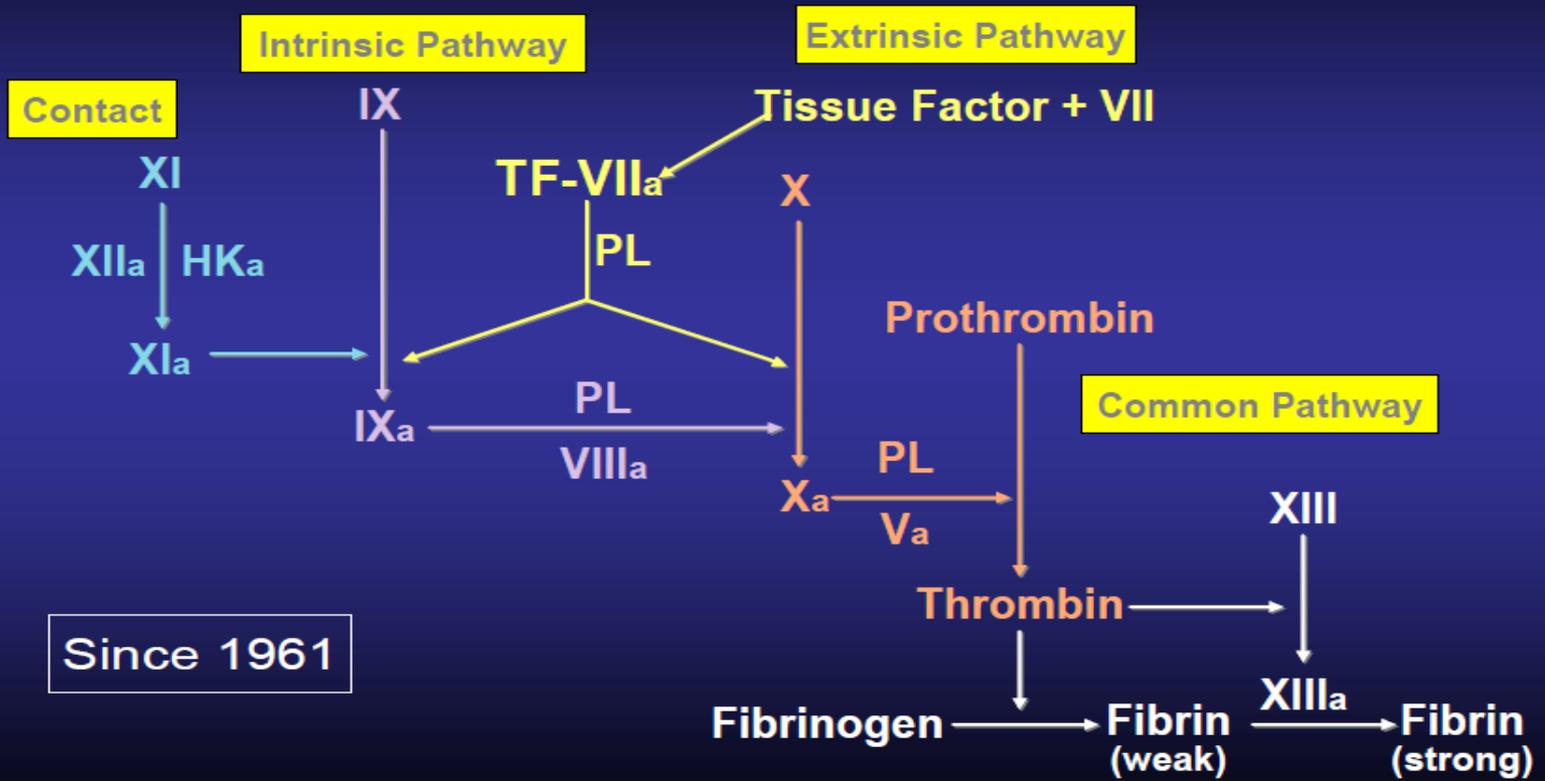


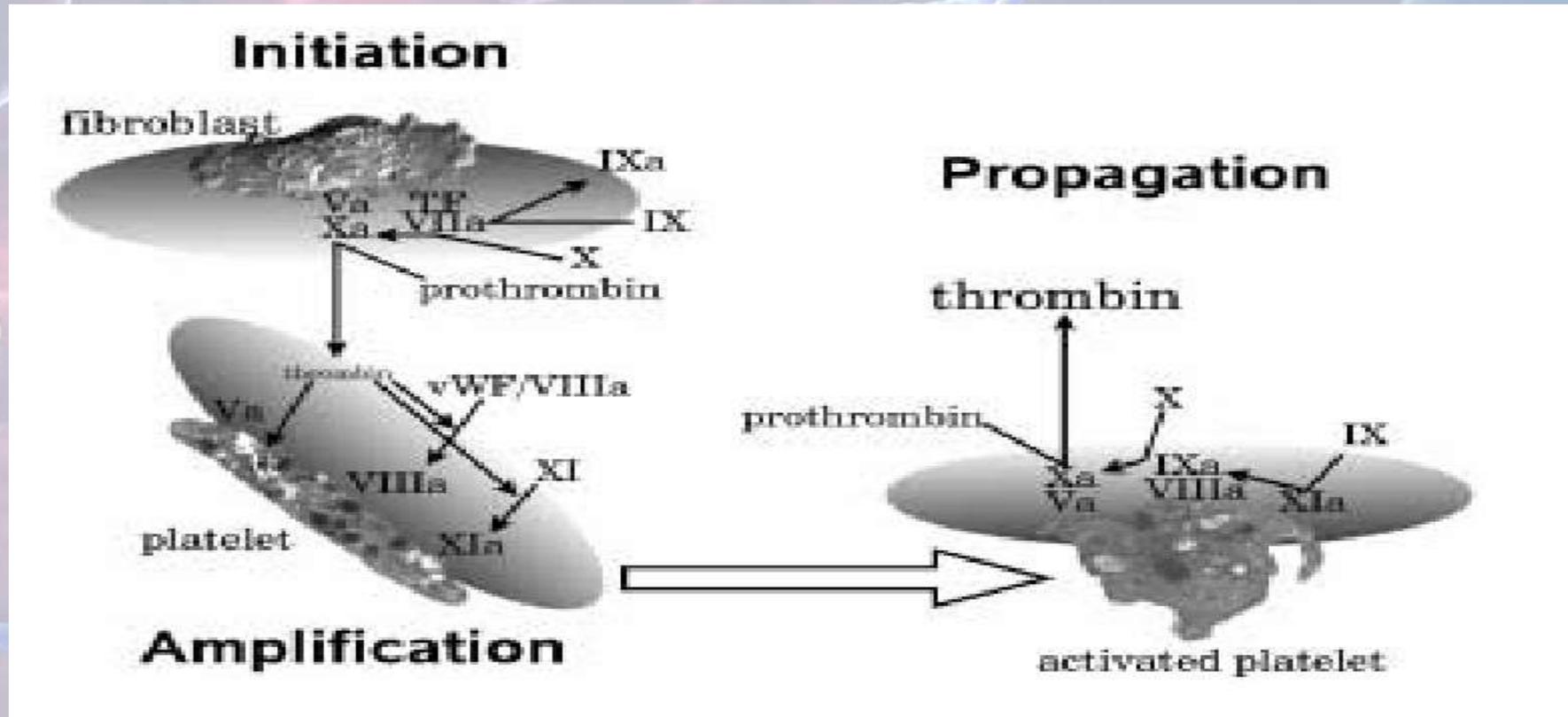
Fig. 1. Tentative mechanisms for the initiation of blood clotting in mammalian plasma in the intrinsic system. Abbreviations: F., factor; Act., activated; P.T.A., plasma thromboplastin antecedent. The term "Act. Proaccelerin" is probably a misnomer but was used in this figure instead of accelerin or prothrombin converting principle. Accelerin refers to a thrombin-modified form of proaccelerin; prothrombin converting principle, a term we have used elsewhere, does not identify the precursor of this enzyme. Hageman factor, Christmas factor, and Stuart factor are clotting factors named after the patients who were among the first observed in which the clotting deficiency was seen. This scheme does not represent all views held on the mechanism of blood coagulation (32).

1. Macfarlane RG. An enzyme cascade in the blood clotting mechanism, and its function as a biological amplifier. *Nature*. 1964;202:498-499.
2. Davie EW, Ratnoff OD. Waterfall sequence for intrinsic blood clotting. *Science*. 1964;145:1310-1312

"Classic" (Test Tube) Coagulation Cascade



Каскадно-матричная (клеточная) теория



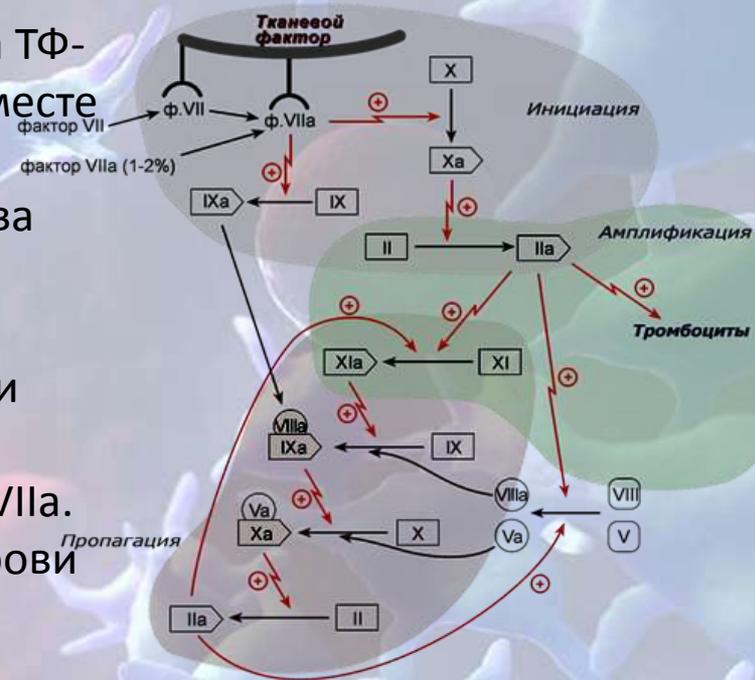
Hoffman M, Monroe D., 2001 – Hoffman M., Monroe D.M. A cell-based model of hemostasis. *Thromb Haemost.* 2001; 85: 958-965

Каскадно-матричная (клеточная) теория

1 фаза – инициация процесса свертывания крови, которая развивается за счет образования комплекса ТФ-ф.VIIa на поверхности субэндотелиальных клеток в месте повреждения сосудистой стенки и приводит к образованию незначительного стартового количества тромбина.

2 фаза – усиление(амплификация) процесса свертывания крови за счет активации тромбоцитов и целого ряда коагуляционных факторов тромбином, который образуется под влиянием комплекса ТФ-ф.VIIa.

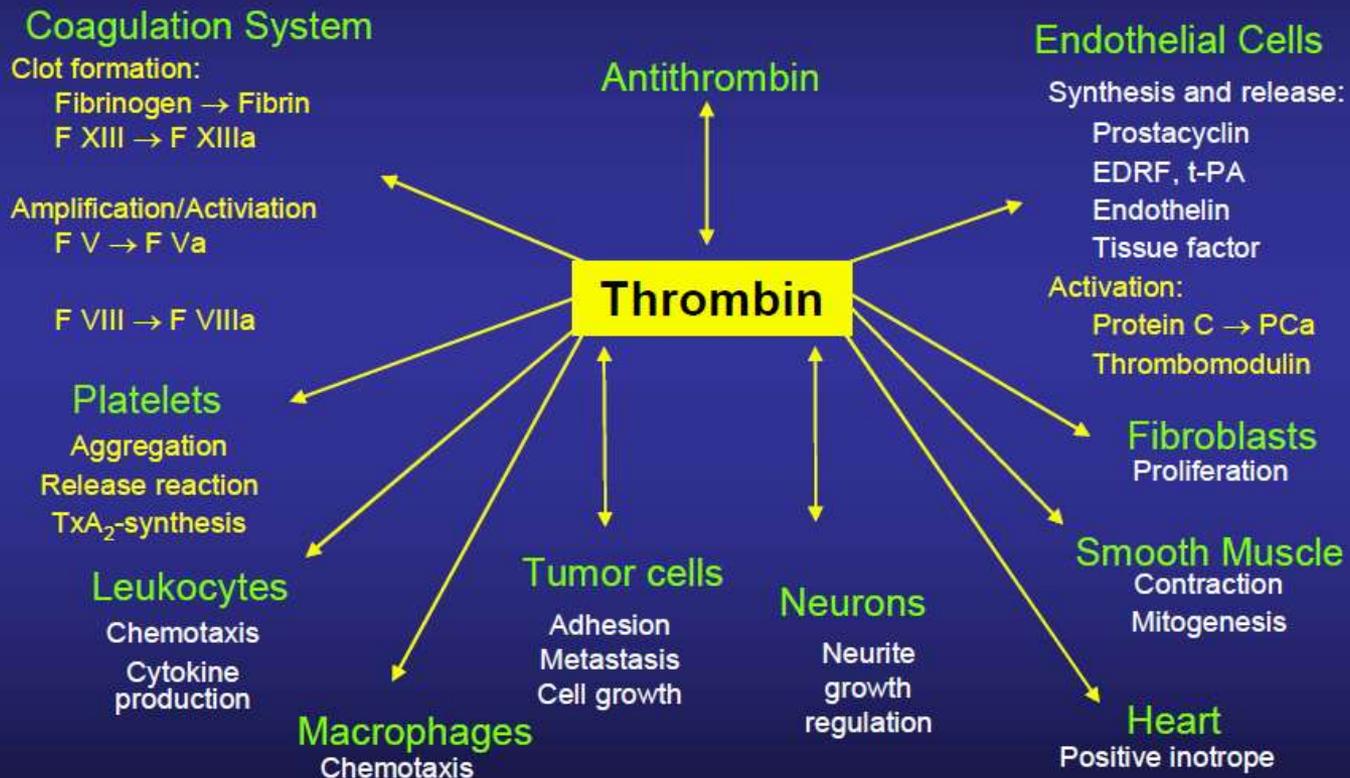
3 фаза – распространение процесса свертывания крови с формированием теназного (ф.VIIIa/ф.IXa) и протромбиназного ф.Va/ф.Xa/кальций/фактор III тромбоцитов) комплексов на поверхности активированных тромбоцитов. В результате образуется значительное количество тромбина («тромбиновый взрыв»), способного сформировать сгусток фибрина.



ГОБАРОВА О.В.

Тромбин - ключевой фермент гемостаза

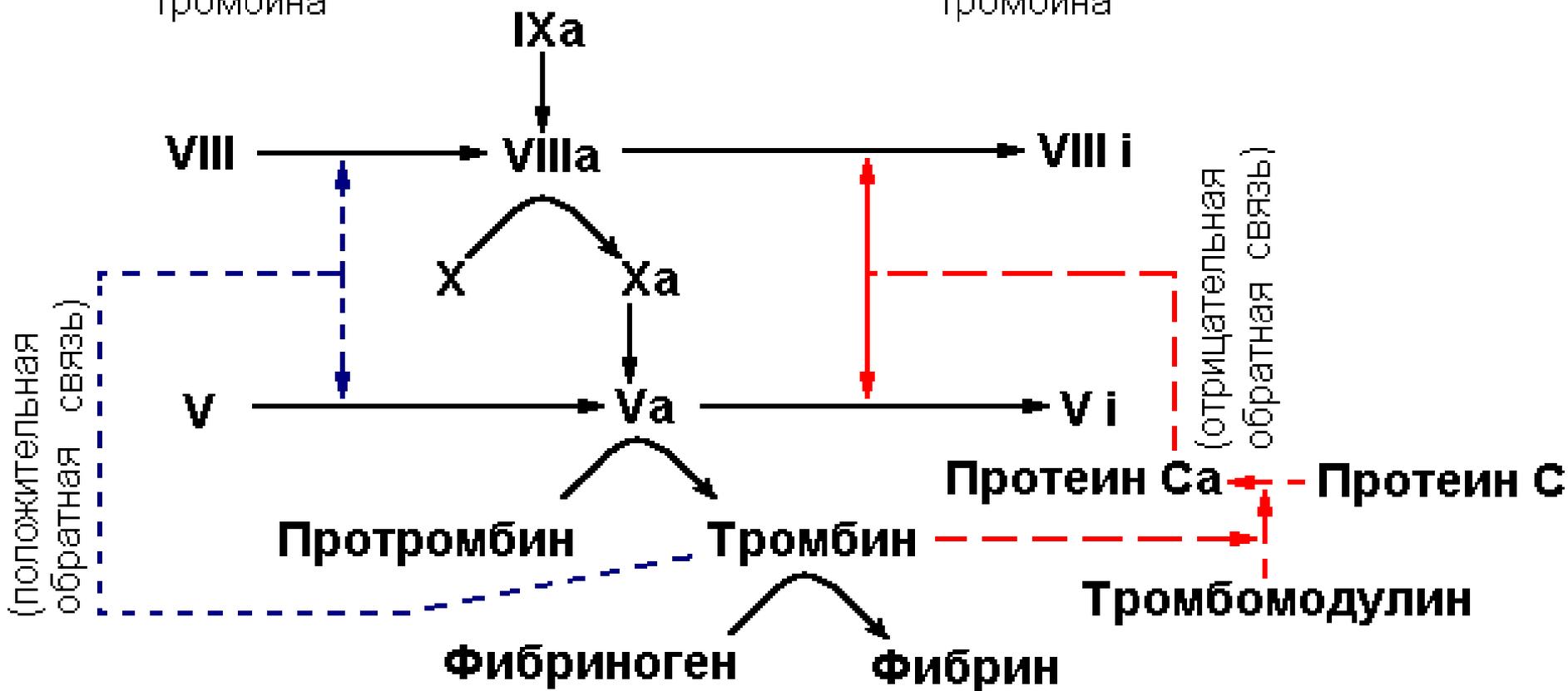
The Many Roles of Thrombin



Прокоагулянтный и антикоагулянтный эффекты тромбина

Прокоагулянтный эффект тромбина

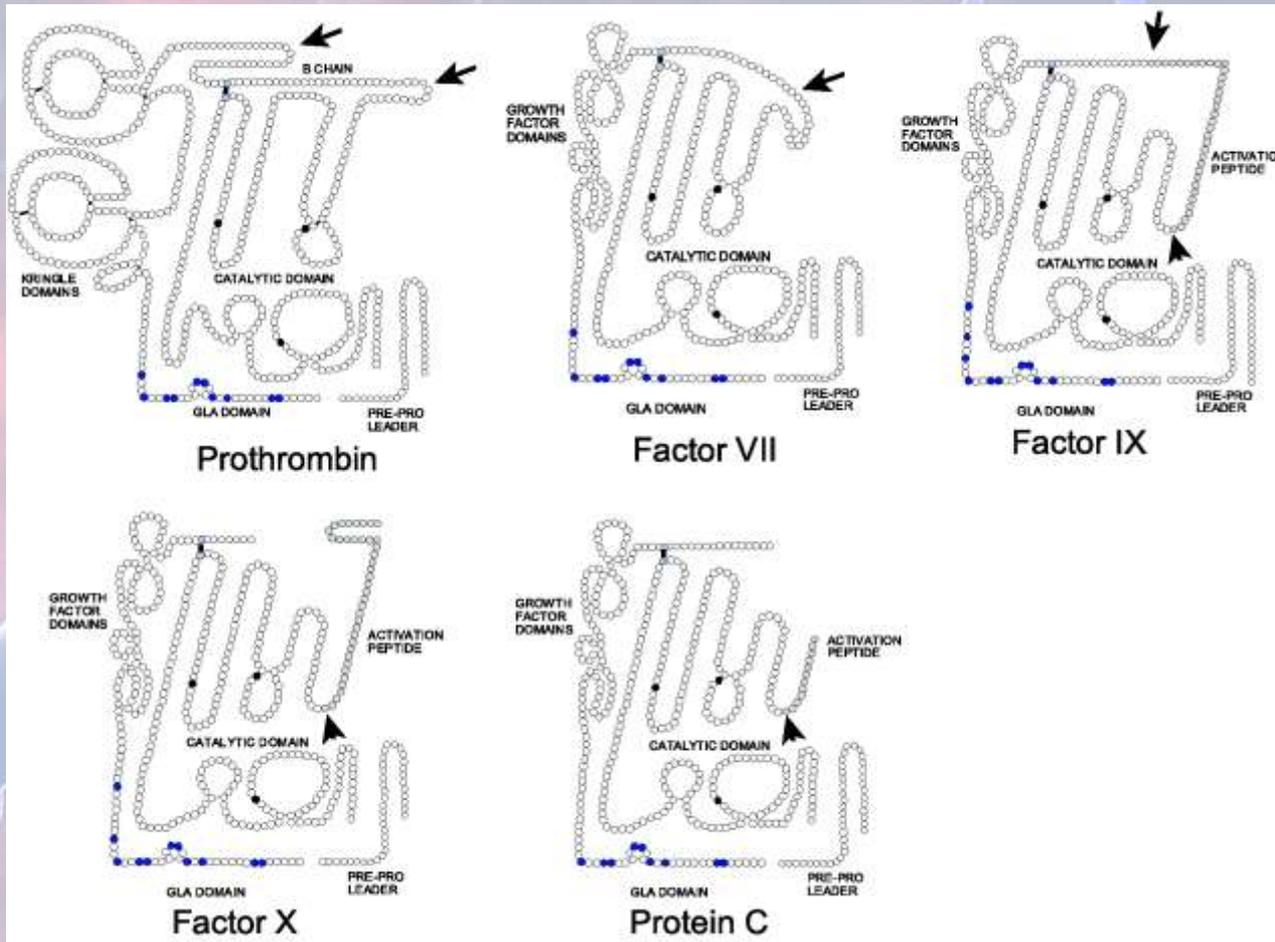
Антикоагулянтный эффект тромбина



Витамин К-зависимые факторы

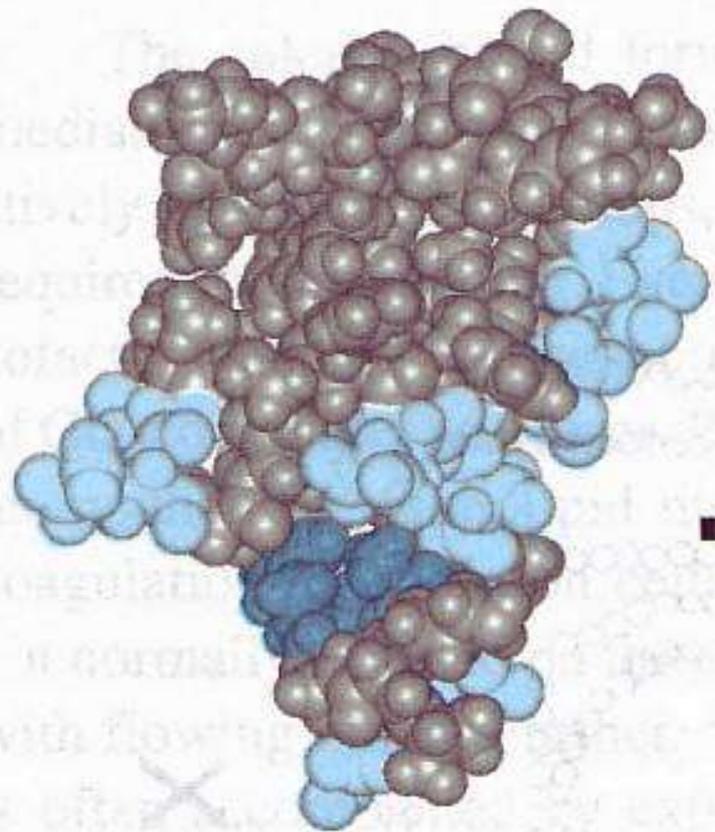
- 1. Факторы свертывания крови II, VII, IX, X, протеины С и S.**
- 2. Имеют сходное химическое строение**
- 3. В системном кровотоке находятся преимущественно в неактивном состоянии**
- 4. Активация путем протеолиза в присутствии ионов кальция**
- 5. Участвуют в процессе свертывания крови в комплексе с белковым ко-фактором на фосфолипидных мембранах.**

Химическое строение факторов свертывания крови

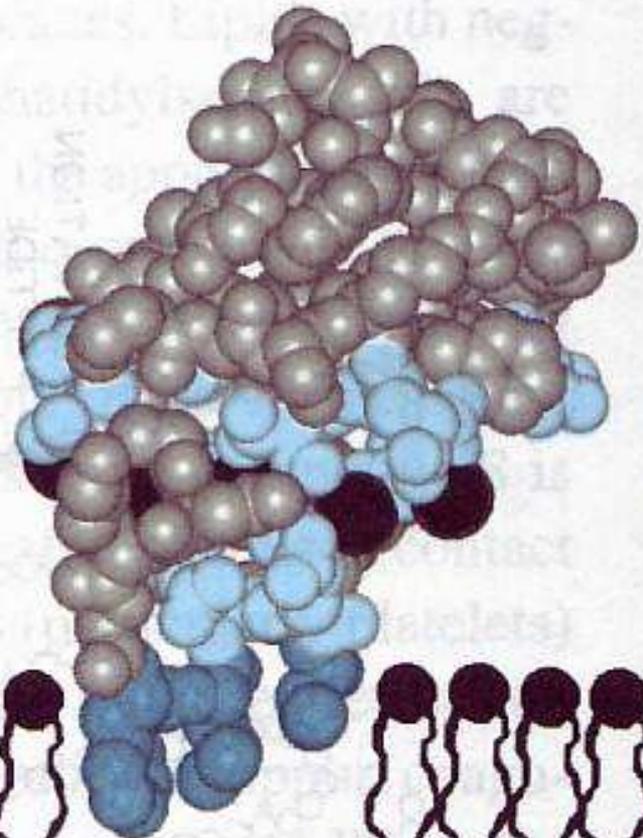


Знание химического строения факторов свертывания крови необходимо для

- *понимания как работают непрямые антикоагулянты*
- *понимания почему хелаторы кальция могут выступать в качестве антикоагулянтов*



7 Ca^{++}



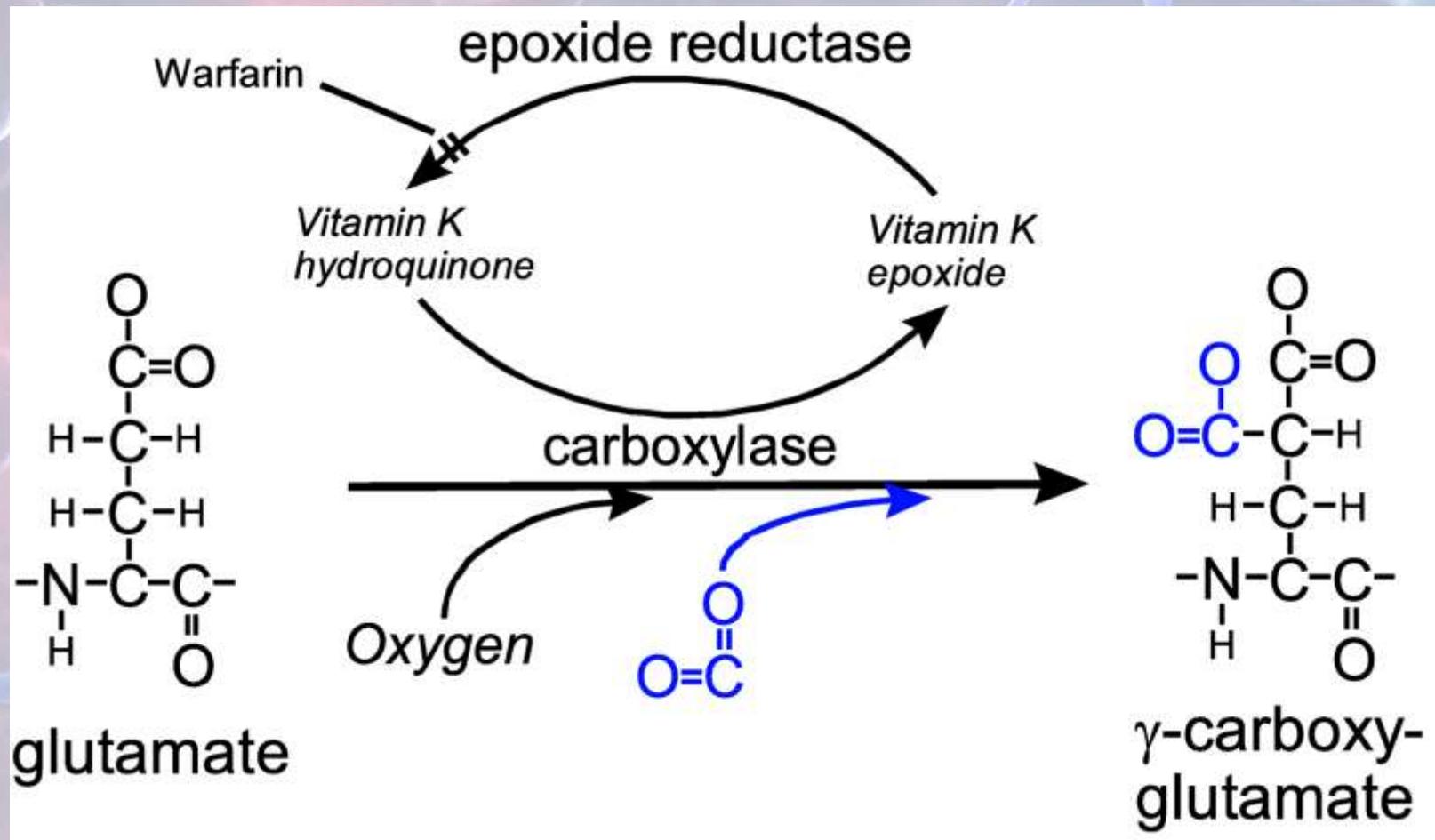
lipid membrane

● Gla residue

● hydrophobic residue

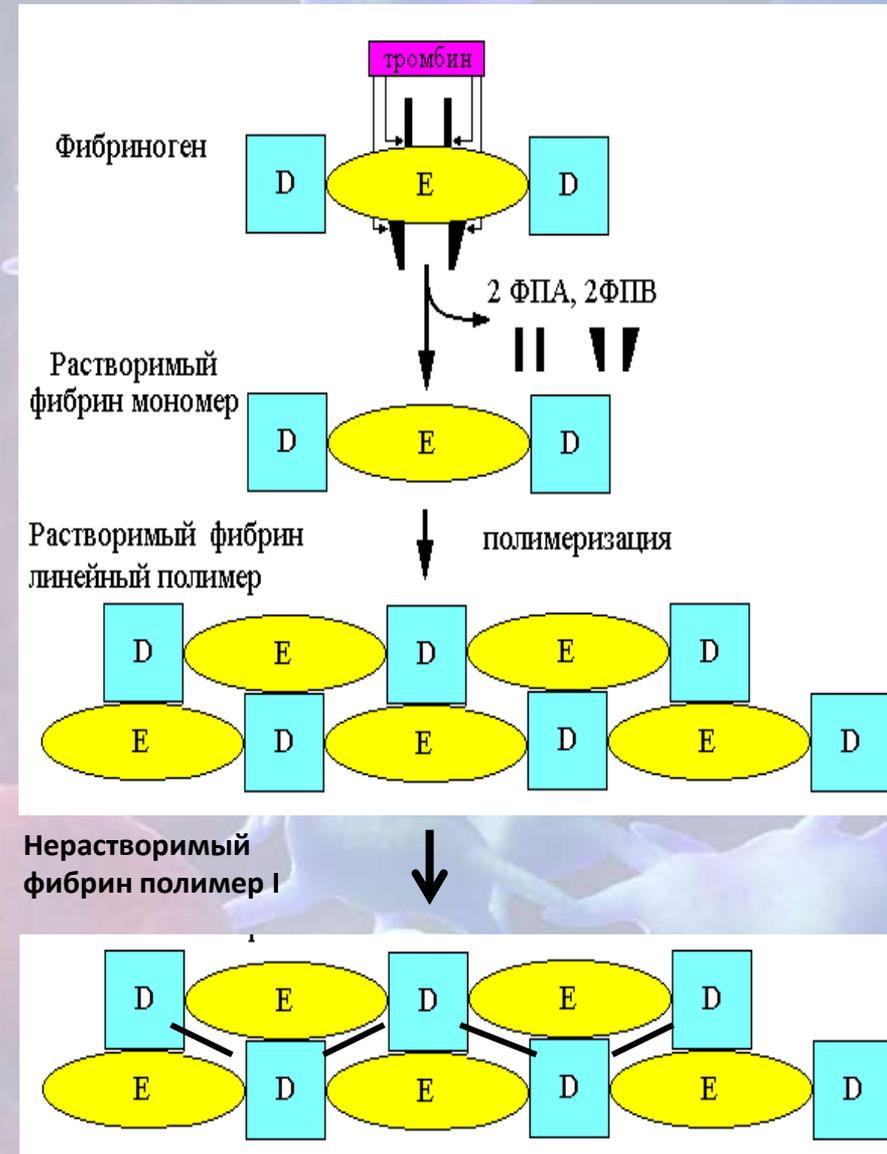
Непрямые антикоагулянты

- *Варфарин усиливает продукцию витамин K-зависимых факторов(II, VII, IX, X факторы, протеины C и S), предупреждая их карбоксилирование.*
- *Отсутствие Gla-остатков в структуре молекулы уменьшает вероятность связывания факторов свертывания с ионами Ca и фосфолипидами мембран*

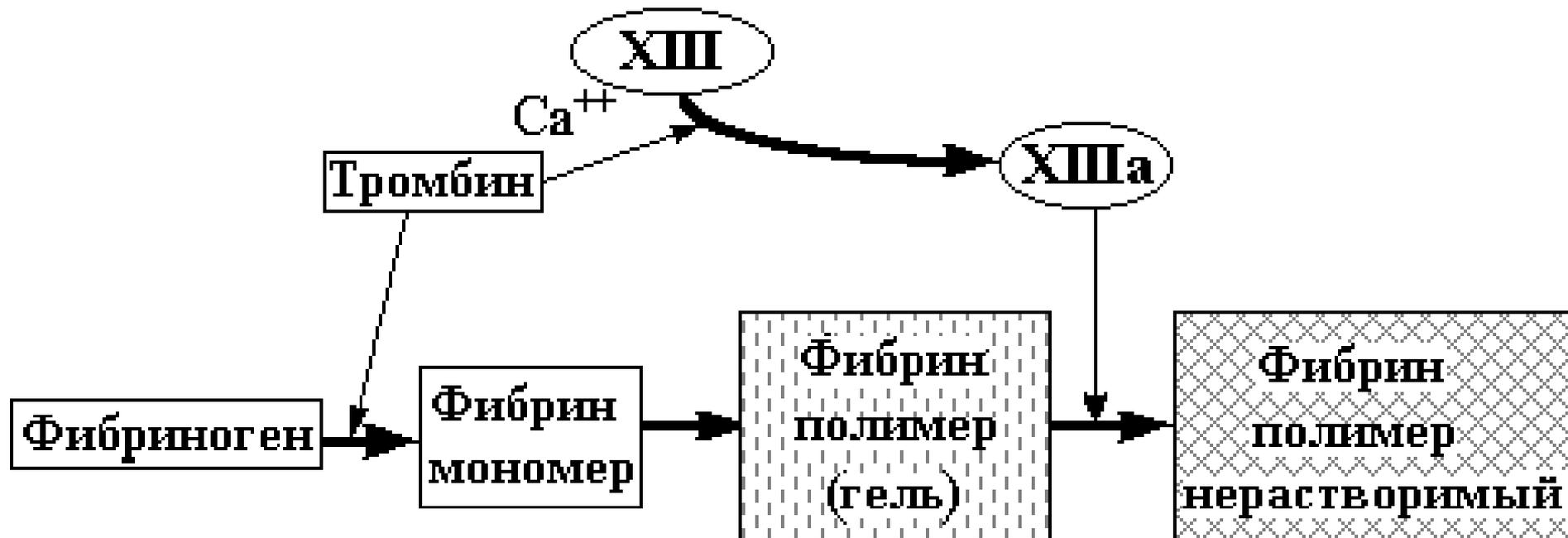


Превращение фибриногена в фибрин

1. Протеолитическая стадия. Образование мономеров фибрина в результате отщепления двух фибринопептидов А и двух фибринопептидов В (2ФПА + 2 ФПВ)
2. Стадия полимеризации. Спонтанная полимеризация мономеров фибрина с образованием растворимых в 5 -7 М мочеvine фибрин-мономерных комплексов (фибрин S- soluble)
3. Ферментативная стадия. Стабилизация фибринового волокна ф. XIIIa с образованием перекрестных изопептидных связей. Образуется нерастворимый фибрин I (insoluble)



Последовательные стадии образования нерастворимого фибрина



Образовавшийся тромб подвергается

- 1. ретракции (под действием тромбостеина
F6 тромбоцитов)**
- 2. фибринолизу**

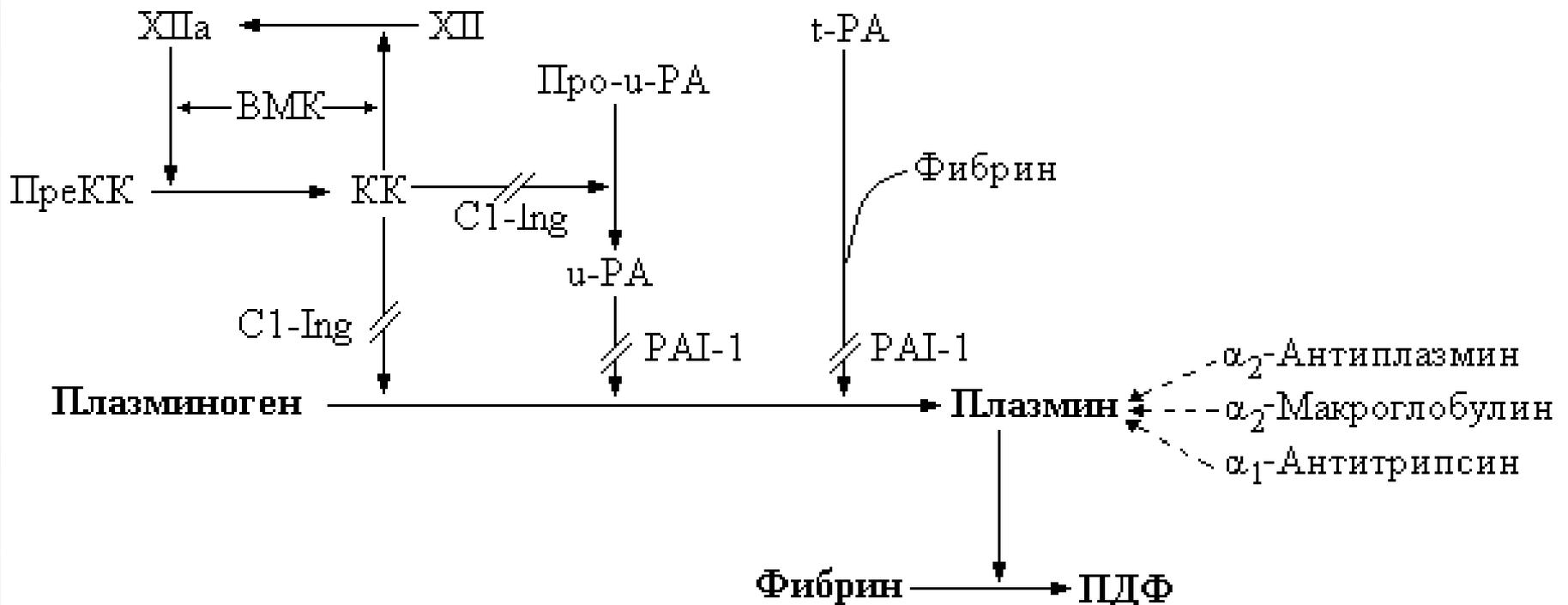
Фибринолиз

стадии

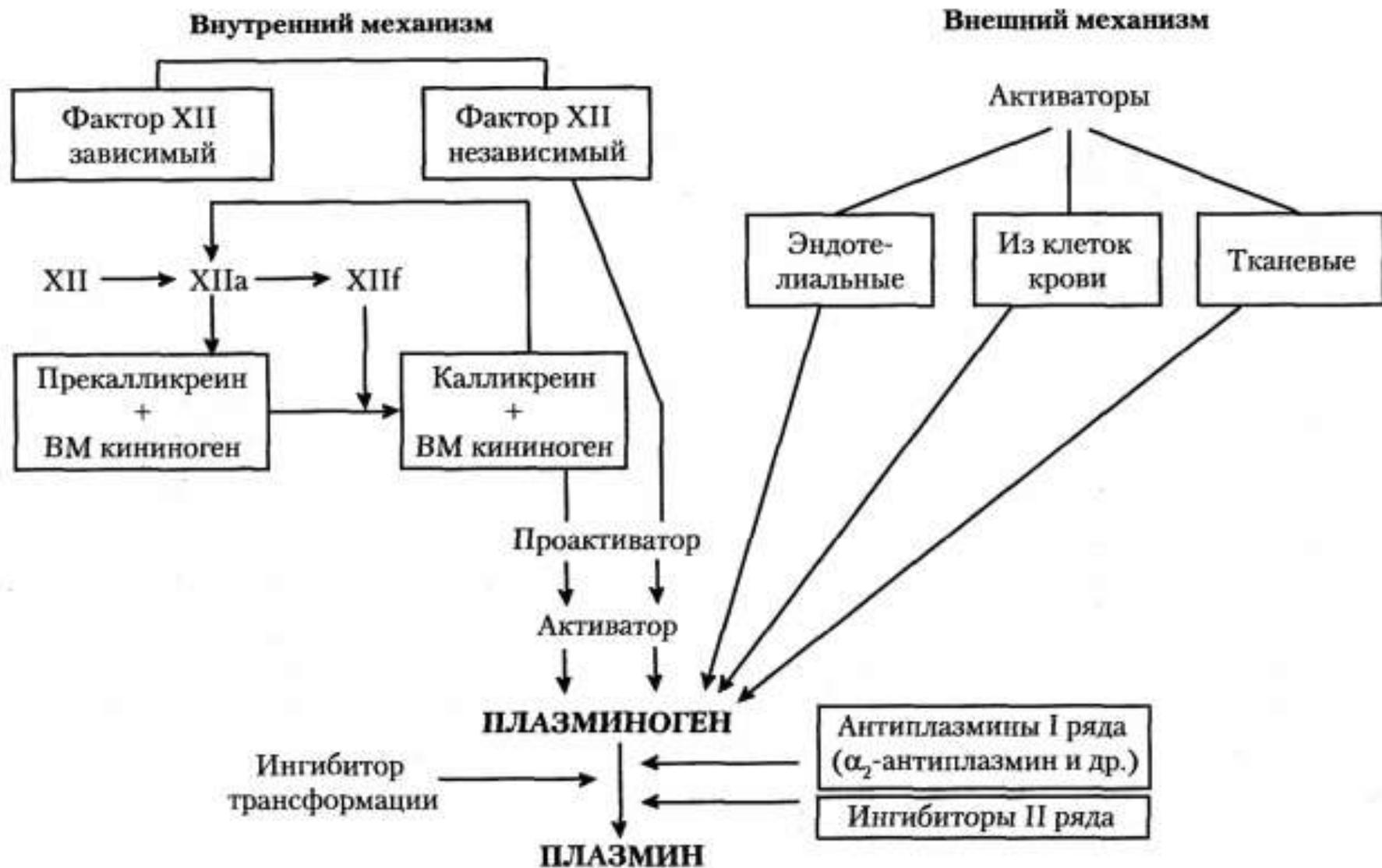
1. превращение плазминогена в плазмин
2. расщепление фибрина под действием плазмина

Внутренний путь

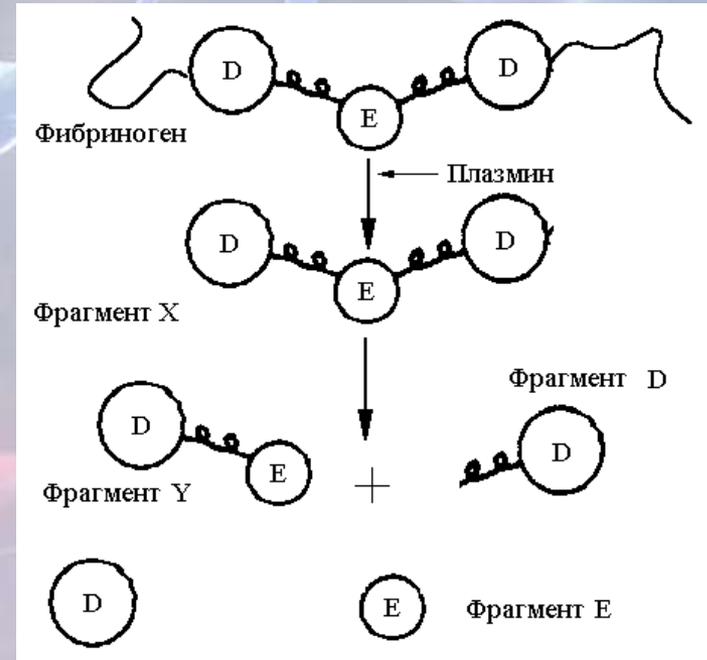
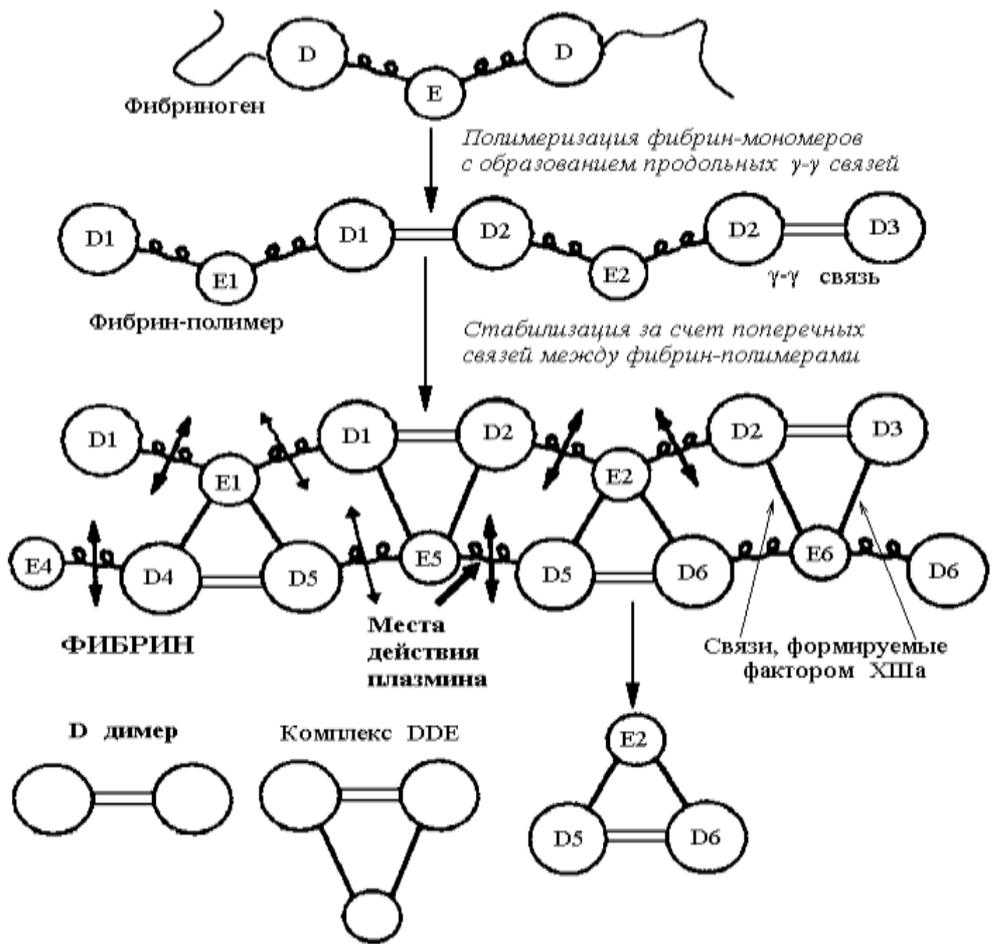
Внешний путь



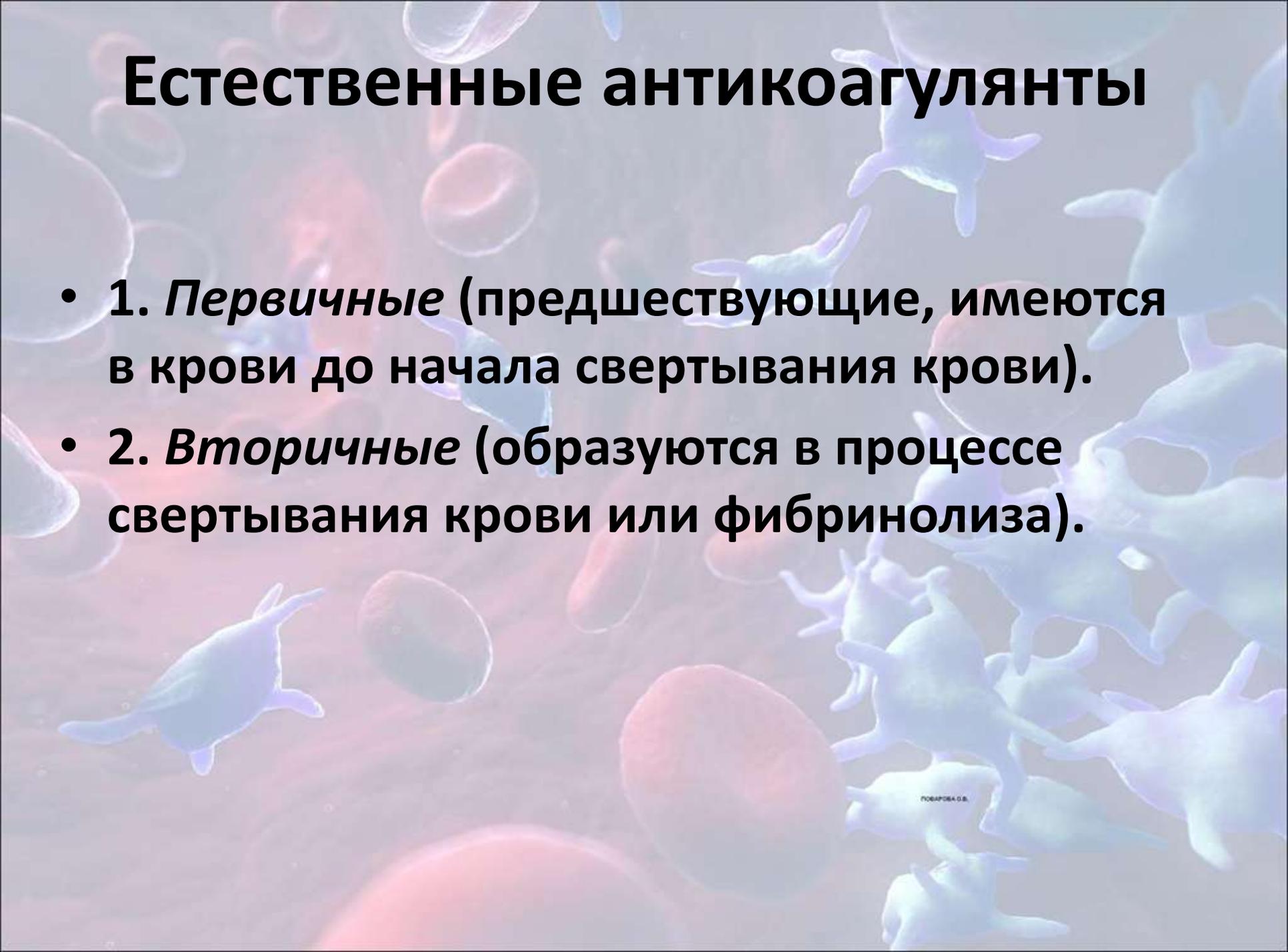
Основные механизмы фибринолитической системы (А.А.Кишкун, 2007)



Образование ПДФ при деградации фибрина и фибриногена плазмином



Естественные антикоагулянты

The background of the slide is a microscopic view of blood components. It features numerous red blood cells, which are biconcave discs with a reddish-pink hue, and several platelets, which are smaller, irregularly shaped cells with a light blue or purple color. The overall scene is set against a soft, out-of-focus background of these cells, creating a biological and medical context for the text.

- **1. Первичные** (предшествующие, имеются в крови до начала свертывания крови).
- **2. Вторичные** (образуются в процессе свертывания крови или фибринолиза).

Первичные антикоагулянты

Антитромбин II (гепарин). Гепарин — сульфатированный полисахарид. Образует комплекс с антитромбином III, трансформируя его в антикоагулянт немедленного действия и усиливая его эффекты, активируя неферментный фибринолиз.

Антитромбин III — плазменный фактор гепарина. Альбуминопо-добный белок, переводящий тромбин в неактивный метатромбин.

γ 2-глобулин. Обладает неферментным фибринолитическим и антикоагулянтным действием.

Антитромбин IV (α 2 -макроглобулин).
 α 2-антитрипсин — ингибитор тромбина, трипсина, плазмина.

C1-эстеразный ингибитор — инактивирует калликреин, предотвращая его действие на плазмин.

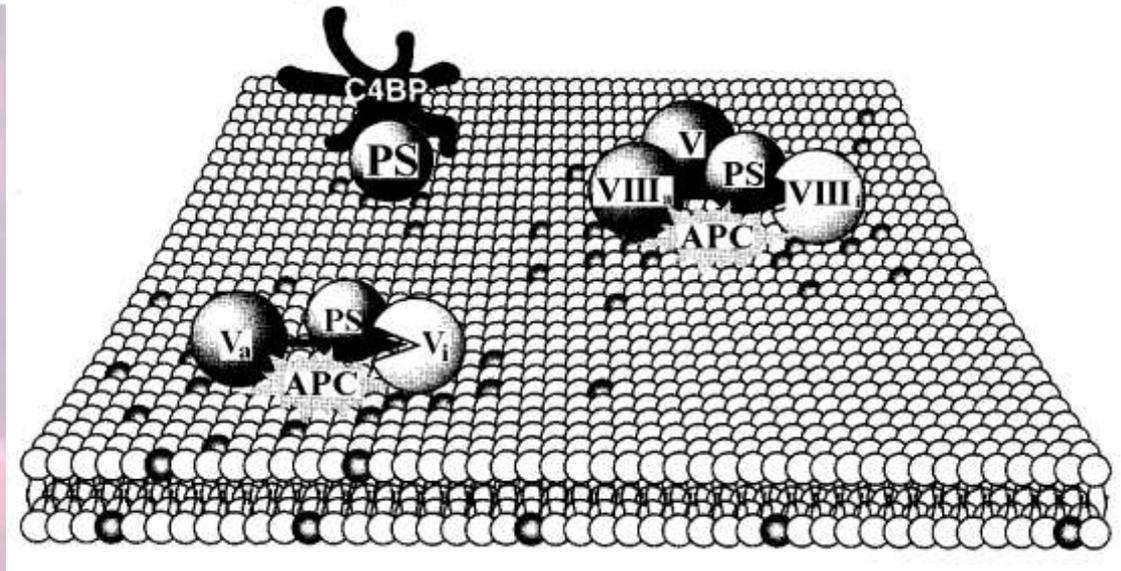
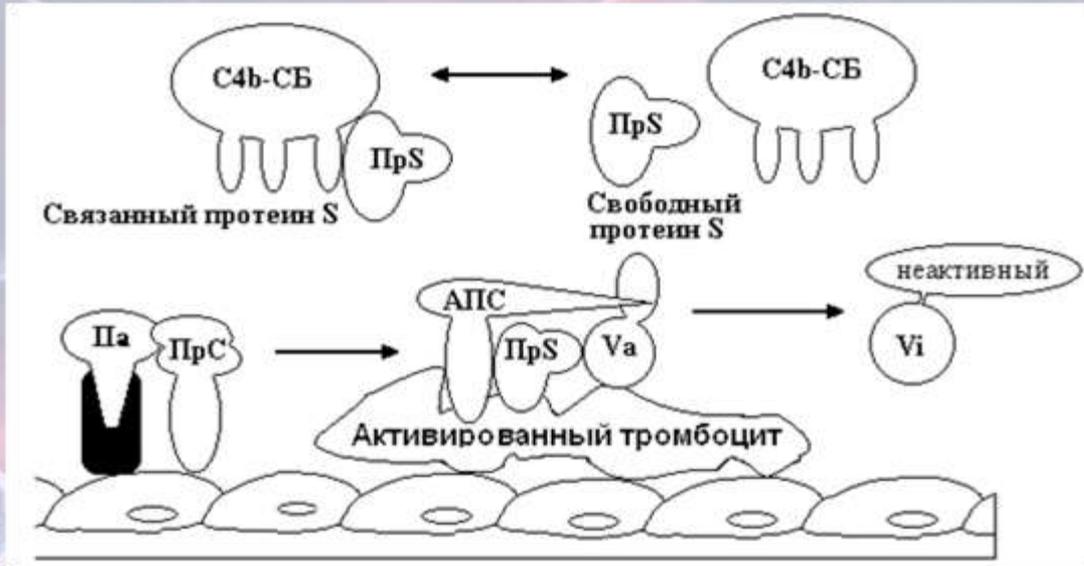
Протеин С — витамин К-зависимый белок. Активирует фибринолиз.

Протеин S — витамин К-зависимый белок. Усиливает действие протеина С.

Ингибитор самосборки фибрина действует на фибрин-мономер и полимер.

Тромбоксан выделяется мышечными и эндотелиальными клетками сосудов. Тормозит агрегацию тромбоцитов.

Система протеина С



Вторичные антикоагулянты

- • **Антитромбин I (фибрин)**. Способен адсорбировать значительное (до 90%) количество тромбина.
- • **Антикоагулянты, образующиеся при фибринолизе** (продукты деградации протромбина, фибриногена и фибрина).
- • **Метафактор Va** — ингибитор фактора Хагемана(XII).

Принципы работы гемостаза

- Принцип избыточности (*факторы свертывания крови в избытке в неактивном состоянии*)
- Принцип активации
- Принцип сборки комплексов (*по принципу комплементарности*)
- Принцип амплификации - каскадного усиления сигнала
- Принцип обратной связи
- Принцип конечного звена
- Принцип защитного ингибирования.

