

ОСНОВНЫЕ КОМПОНЕНТЫ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА

- Сосудистая стенка (эндотелий)
- Клетки крови (тромбоциты)
- Плазменные факторы
- Фибринолиз
- Антикоагулянты



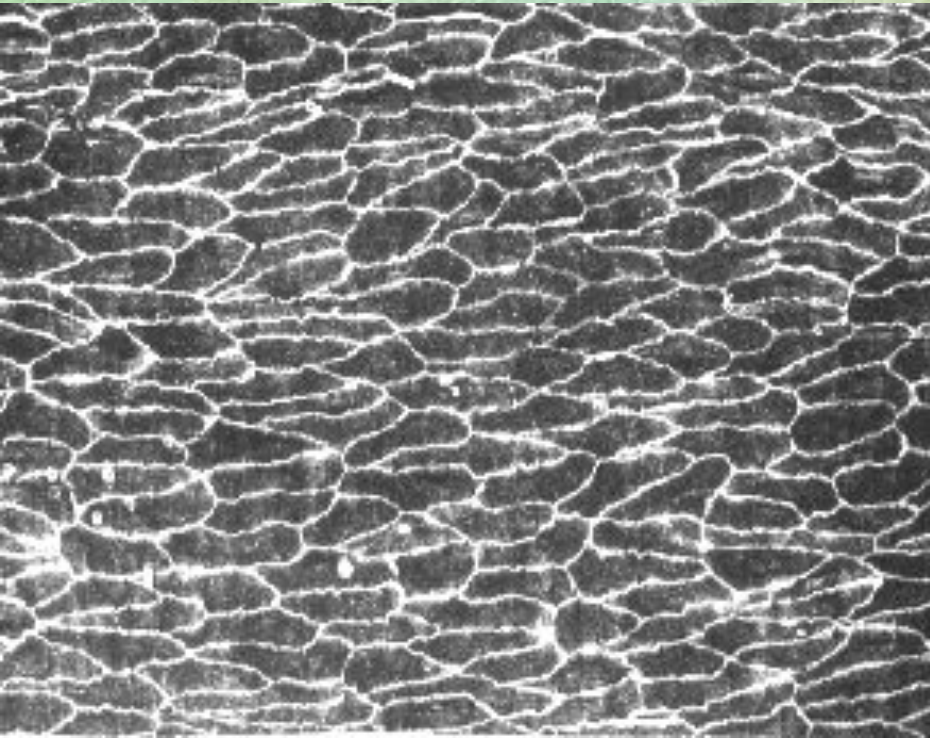
Этапы гемостаза

<u>Первичный гемостаз</u> (сосудисто-тромбоцитарный)	<u>Вторичный гемостаз</u> (плазменный)	<u>Фибринолиз</u>
<ul style="list-style-type: none">* Вазоконстрикция (немедленно)* Адгезия тромбоцитов (секунды)* Агрегация тромбоцитов (минуты)	<ul style="list-style-type: none">* Активация плазменных факторов свертывания* Образование фибрина (минуты)	<ul style="list-style-type: none">* Активация факторов фибринолиза (минуты)* Лизис кровяного сгустка (часы)

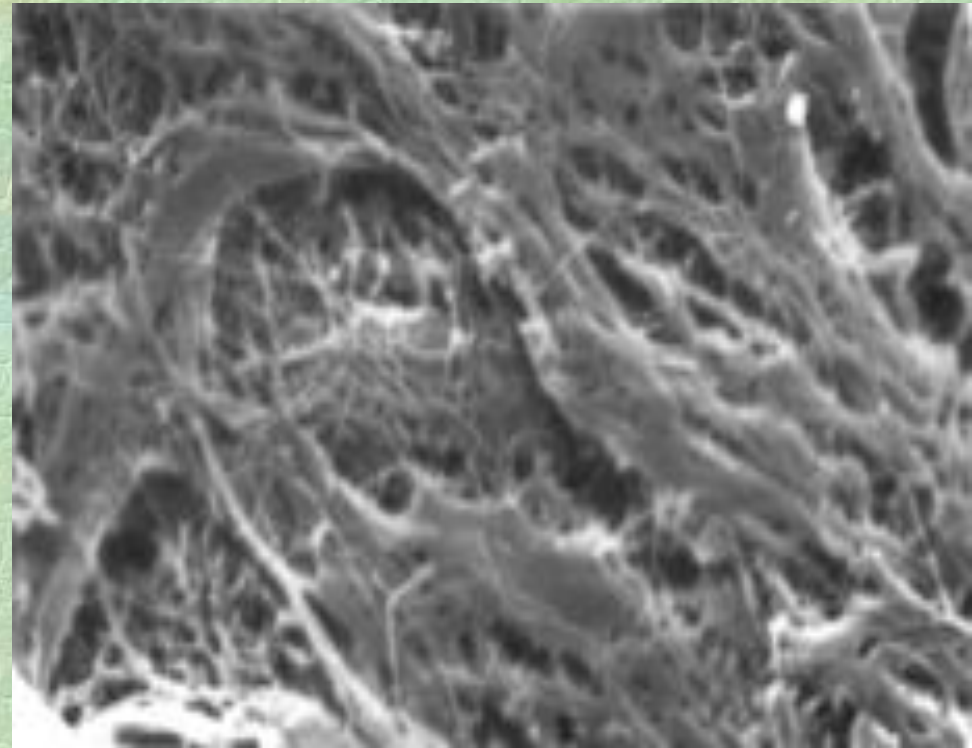


Повреждение

Принцип контактного взаимодействия

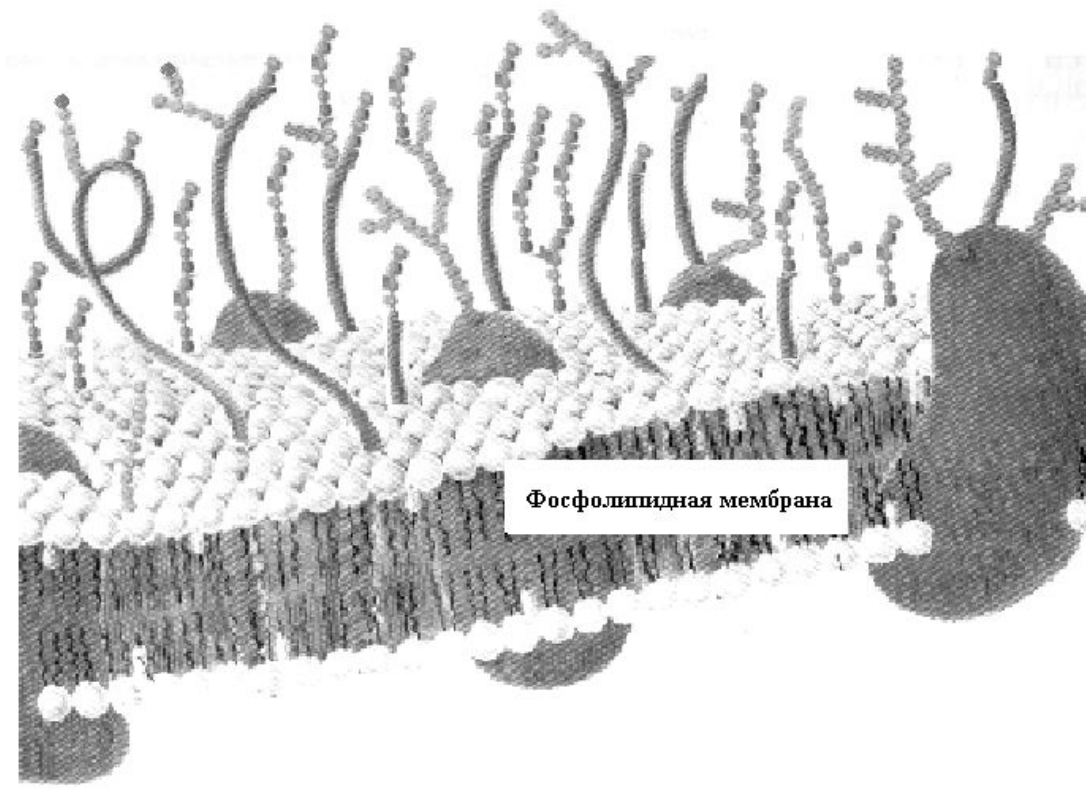


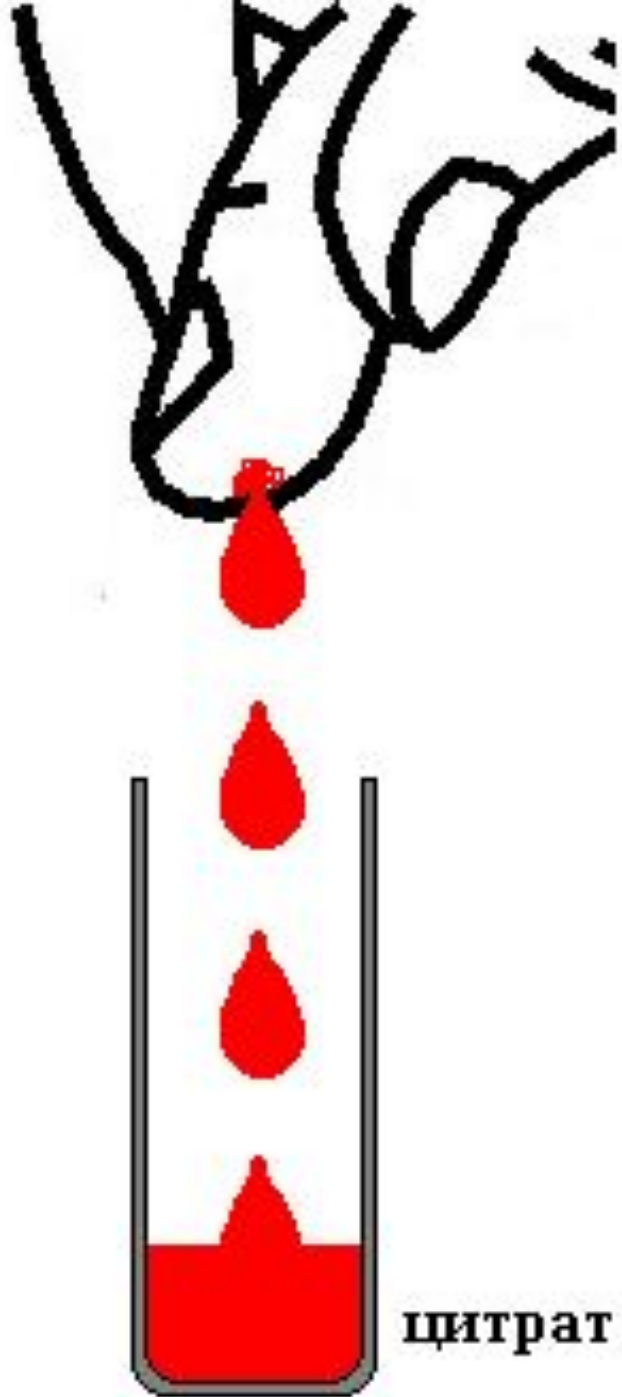
Эндотелиальный покров сосудов – гладкая текучая поверхность. Целостность эндотелия – основное условие несвертывания крови в сосудистом русле



Субэндотелий организован полимерными белками: коллагеном, эластином, имеющими свойство твердого тела. Субэндотелий обладает выраженным тромбогенным эффектом

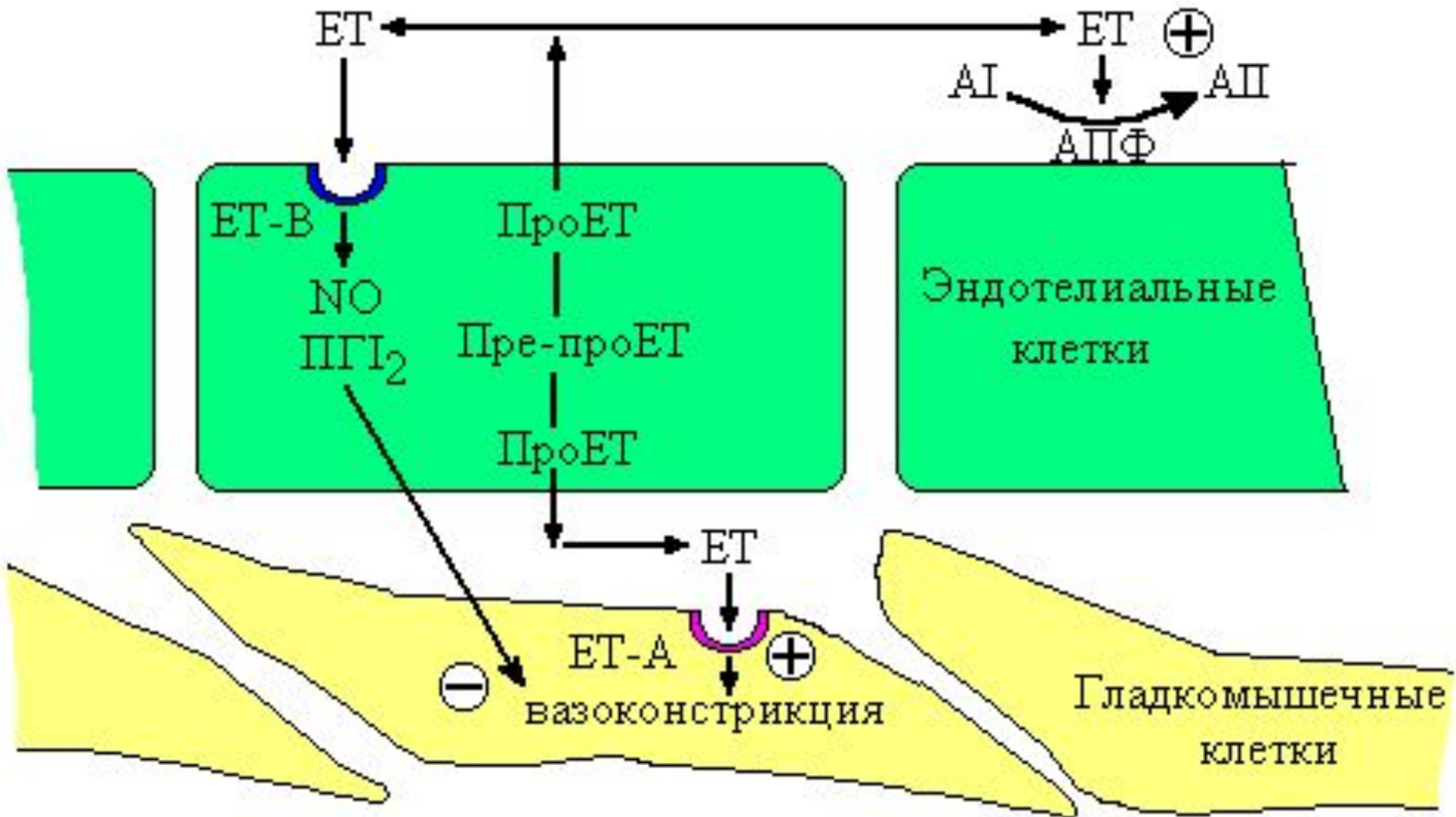
Протеогликан – основной элемент гликокаликса, сформированного на поверхности неповрежденной сосудистой стенки





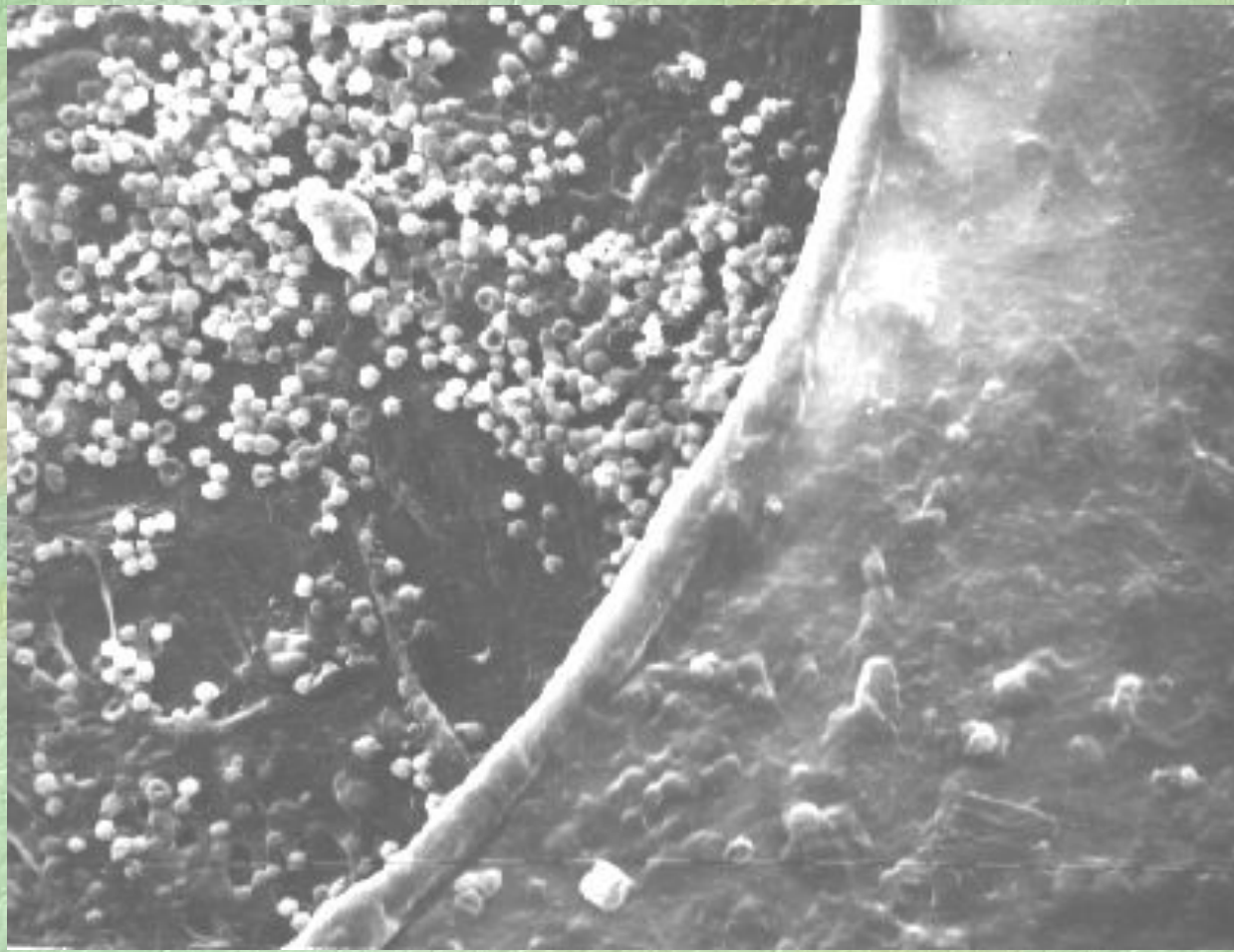
При взятии крови в антикоагулянт не допускается стекание крови по коже пальца, по стенке пробирки и любой другой поверхности, так как мгновенно происходит контактная активация процесса свертывания. Кровь самотеком из прокола должна попадать прямо в антикоагулянт, перемешиваясь с ним.

В физиологических концентрациях эндотелин действует на эндотелиальные рецепторы, вызывая высвобождение факторов релаксации, а в более высоких – активирует рецепторы на гладкомышечных клетках, стимулируя стойкую вазоконстрикцию



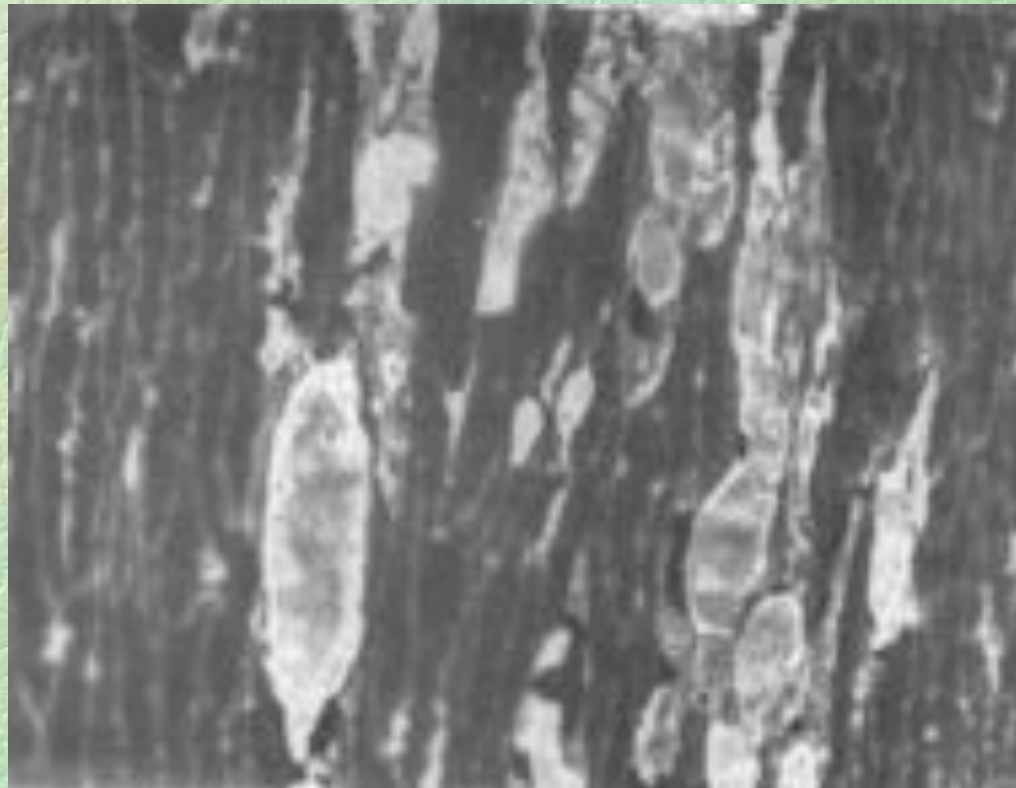
Сравнительная характеристика эндотелина и липидов у пациентов с нестабильной стенокардией

Показатель	Пациенты с нестабильной стенокардией	Здоровые люди	Достоверность различий	Референтные значения
Общий холестерин (ммоль/л)	5,43 ± 0,89	3,98 ± 0,87	P < 0,05	3,5 – 5,2
ХС-ЛПНП (ммоль/л)	3,27 ± 0,57	2,47 ± 0,69	P < 0,05	1,0 – 3,5
ХС-ЛПВП (ммоль/л)	1,19 ± 0,25	1,08 ± 0,27	нд	1,0 – 1,9
Общие триглицериды (ммоль/л)	1,77 ± 0,65	0,82 ± 0,49	P < 0,05	0,5 - 2,0
Эндотелин-1 (пг/мл)	1,29 ± 0,59	0,58 ± 0,17	P < 0,01	0,3 – 0,9*



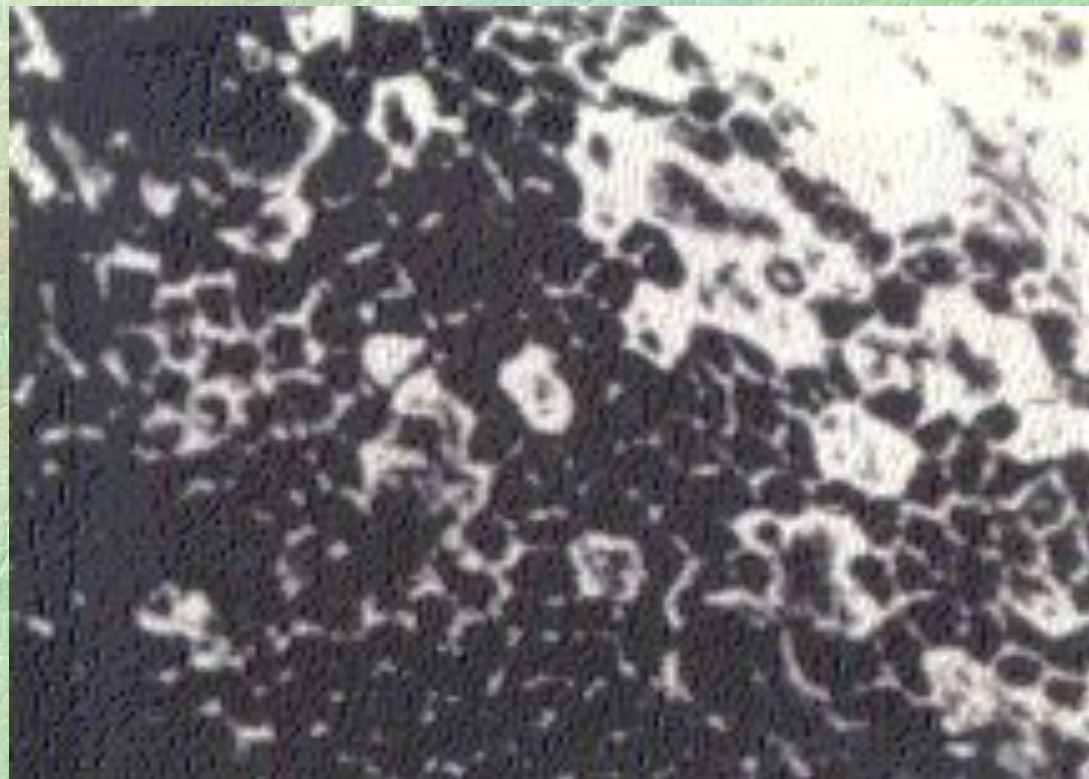
ЭНДОТЕЛИЙ ПРИ СЕПСИСЕ

Септическое повреждение эндотоксином

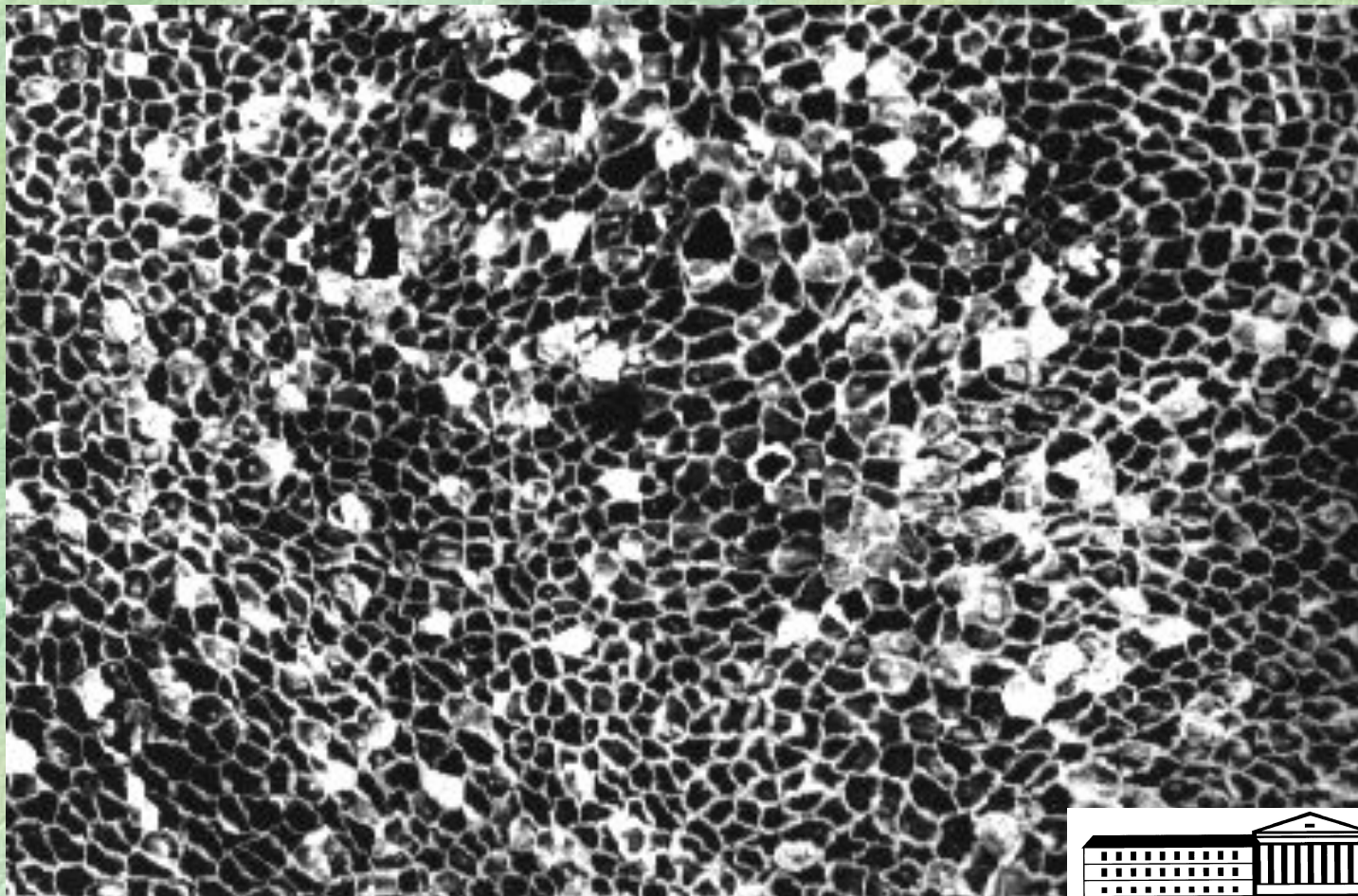


ЭНДОТЕЛИЙ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

Пупочная вена

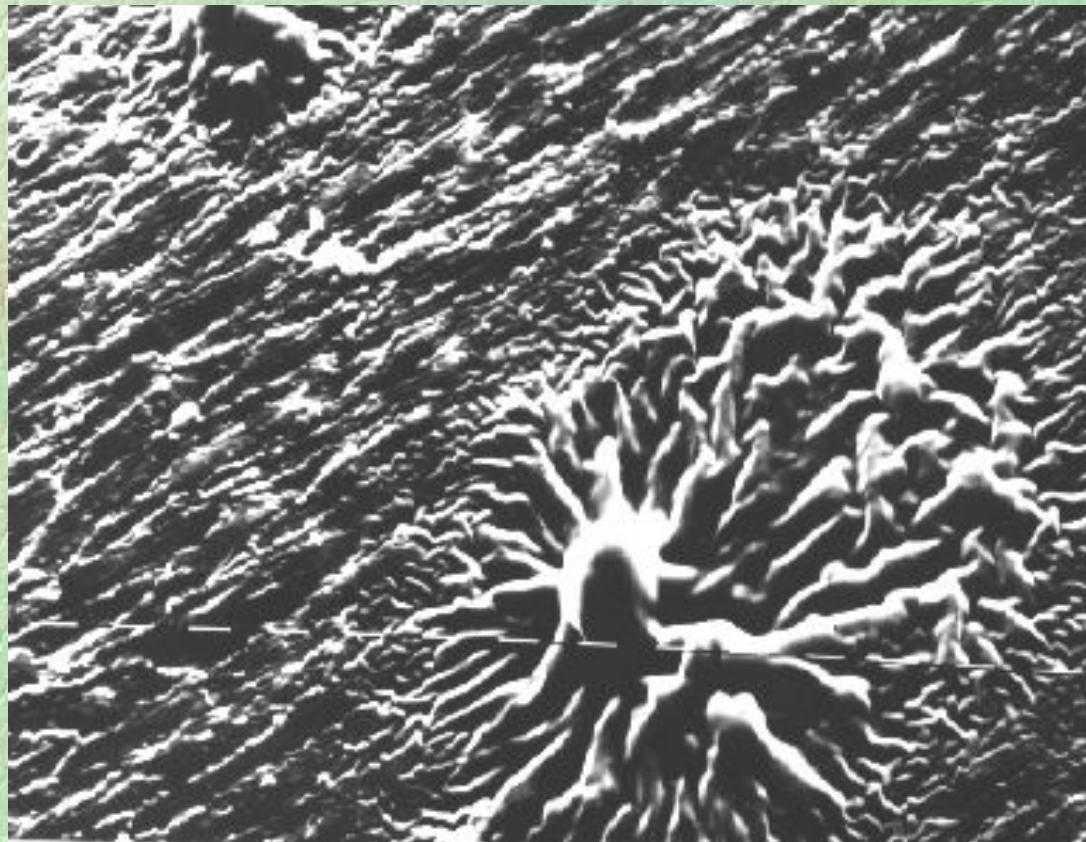


ПУПОЧНАЯ ВЕНА БОЛЬНОЙ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

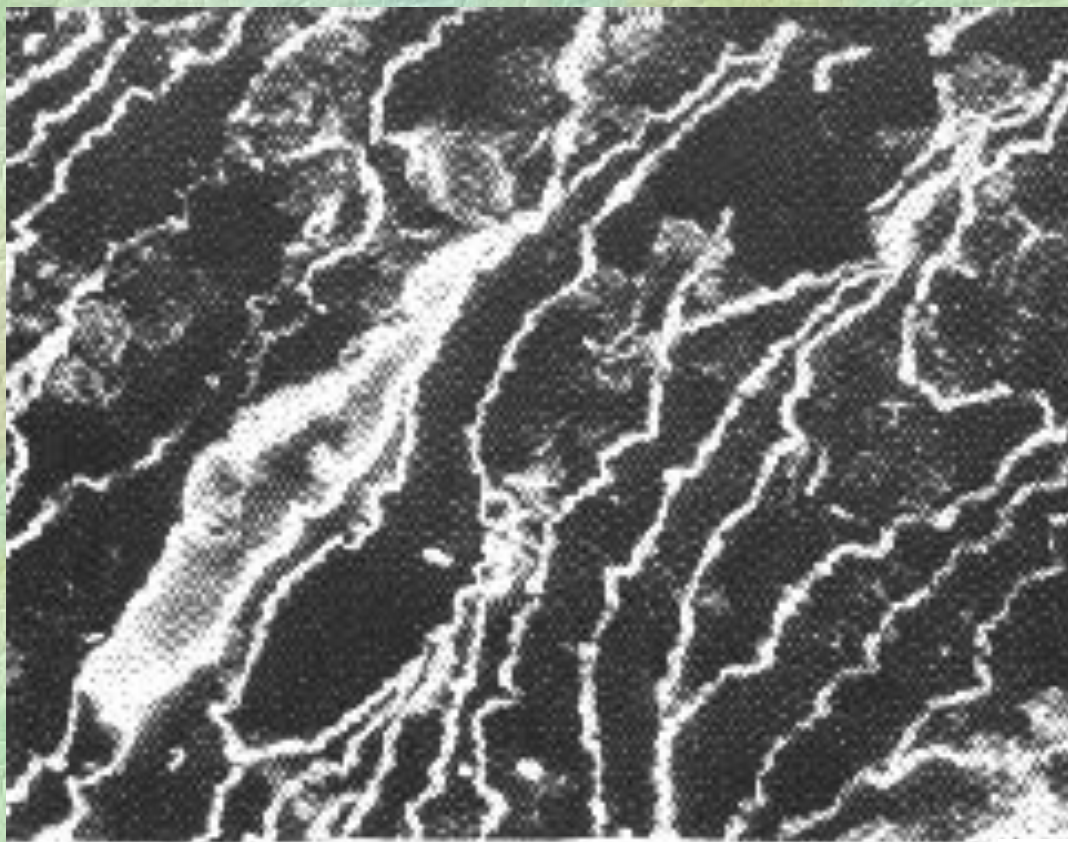


ПОВРЕЖДЕНИЕ ЭНДОТЕЛИЯ ПРИ СТРЕССЕ

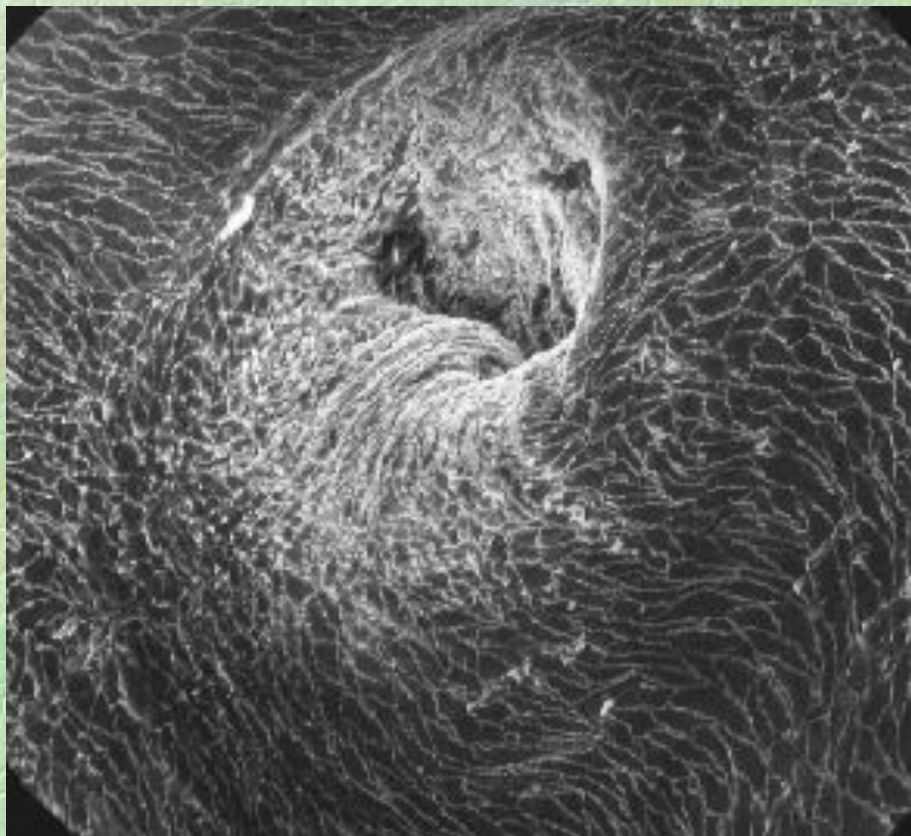
Ребенок погиб после агонального периода



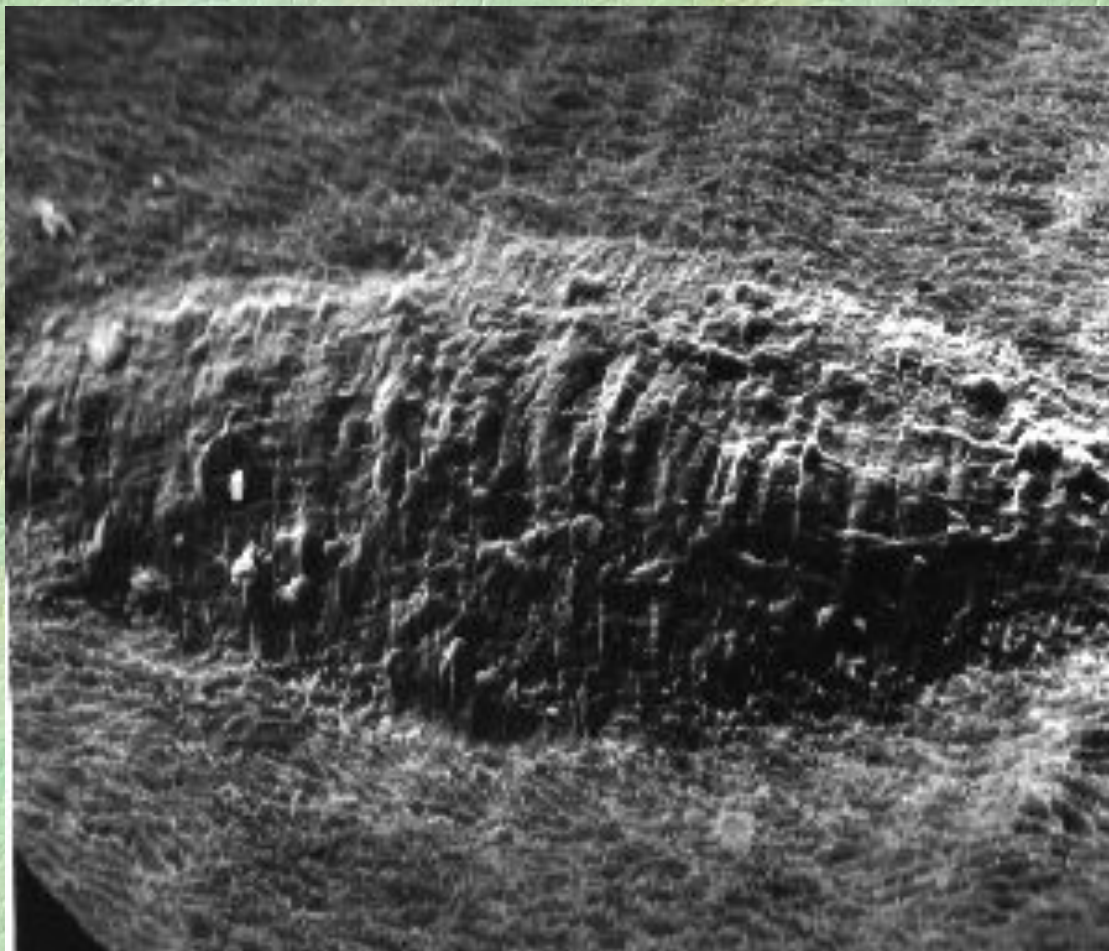
ПОСТРЕЦЕПТОРНОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ ЭНДОТЕЛИЯ



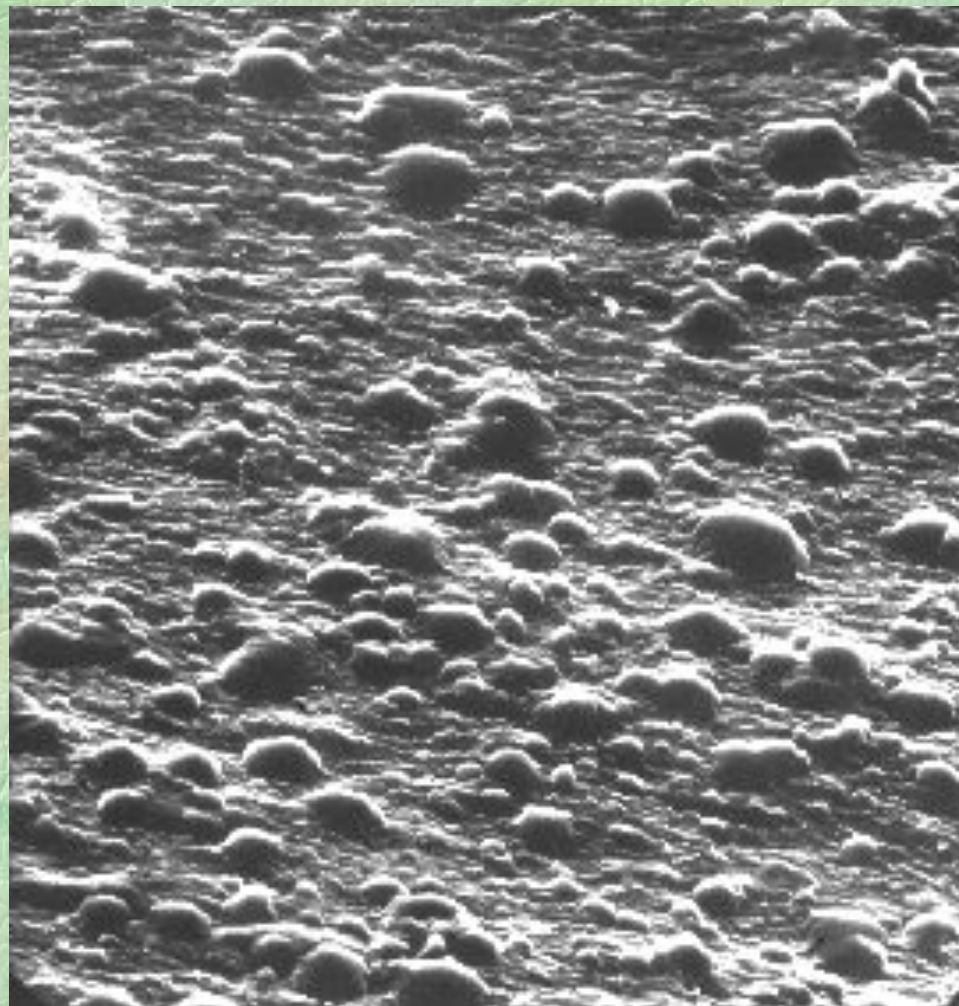
ЗОНА ГЕМОДИНАМИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ У ЧАСТЯ МЕЖРЕБЕРНОЙ АРТЕРИИ



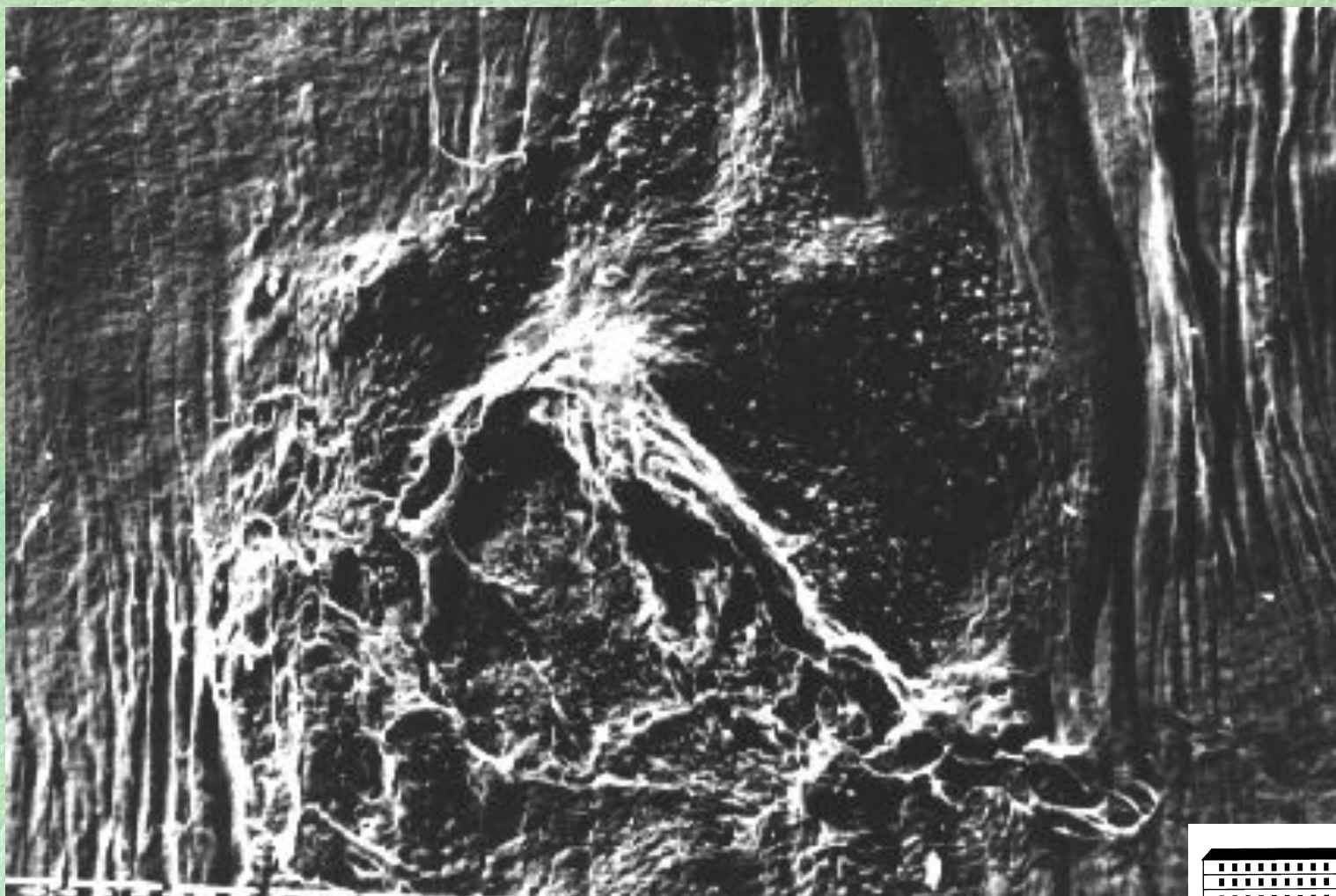
Атеросклеротическая бляшка



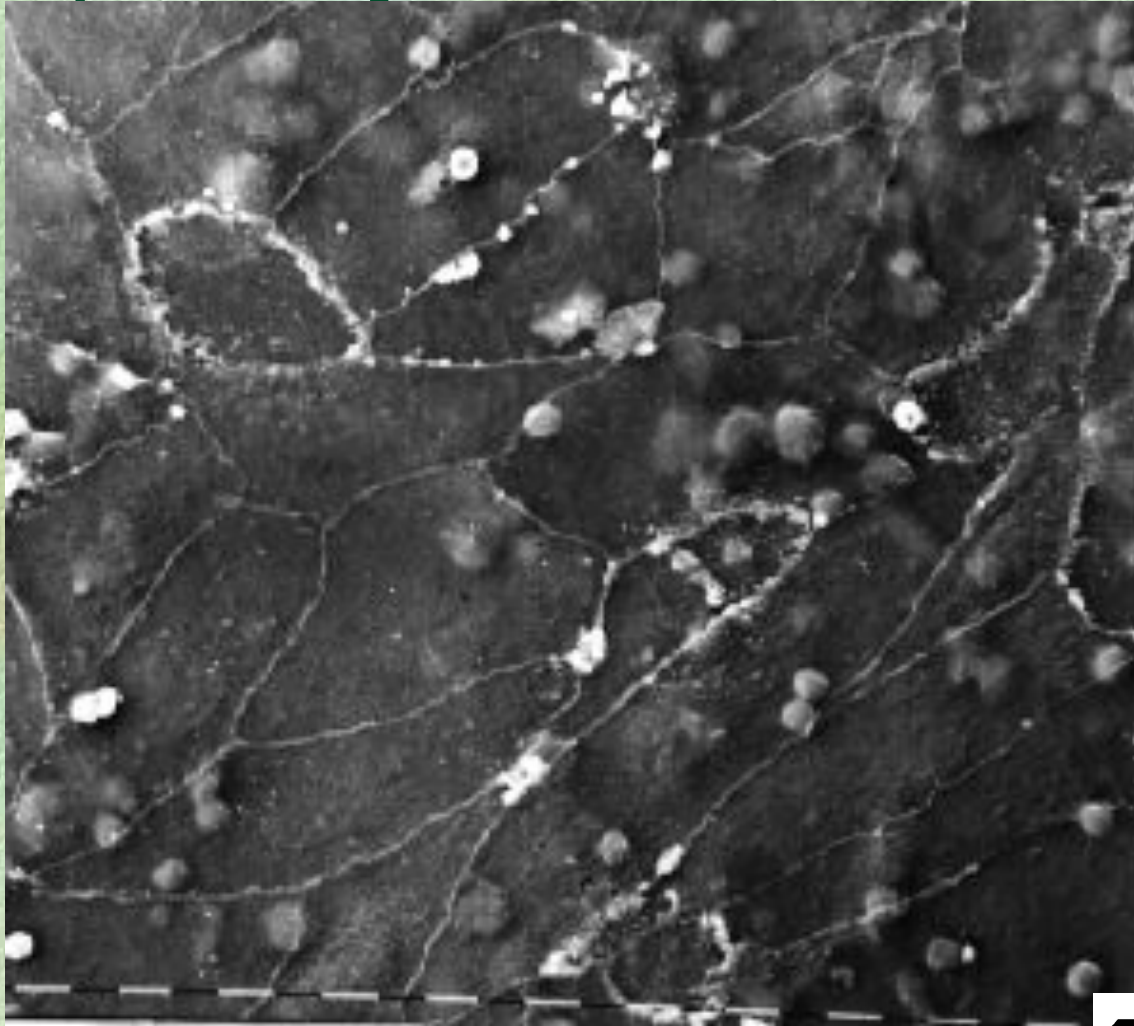
Липоидоз сосудистой стенки



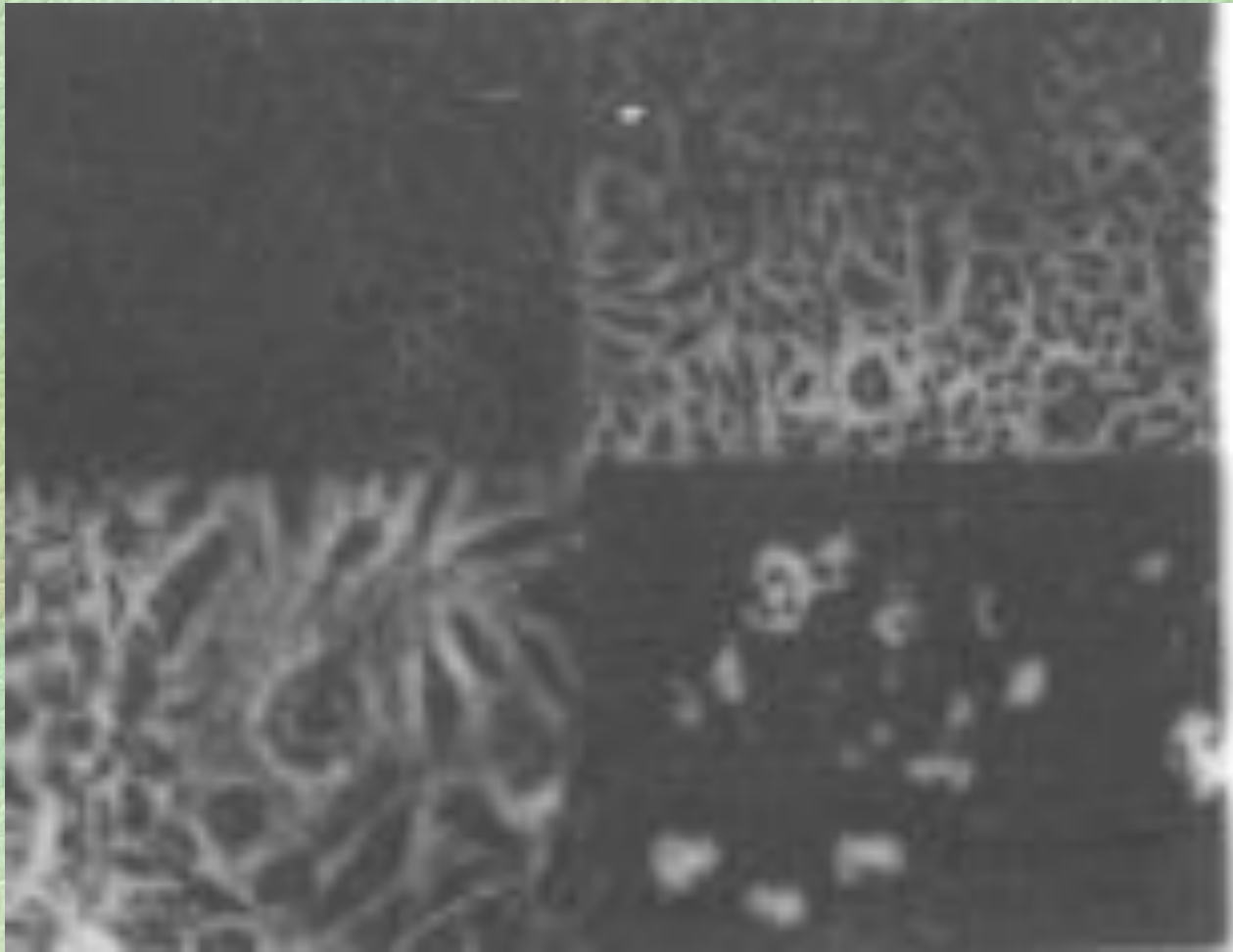
ЛОПНУВШАЯ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКАЯ БЛЯШКА



Многоядерные гигантские перерастянутые эндотелиоциты



Эндотелий в культуре



Тромбоцит



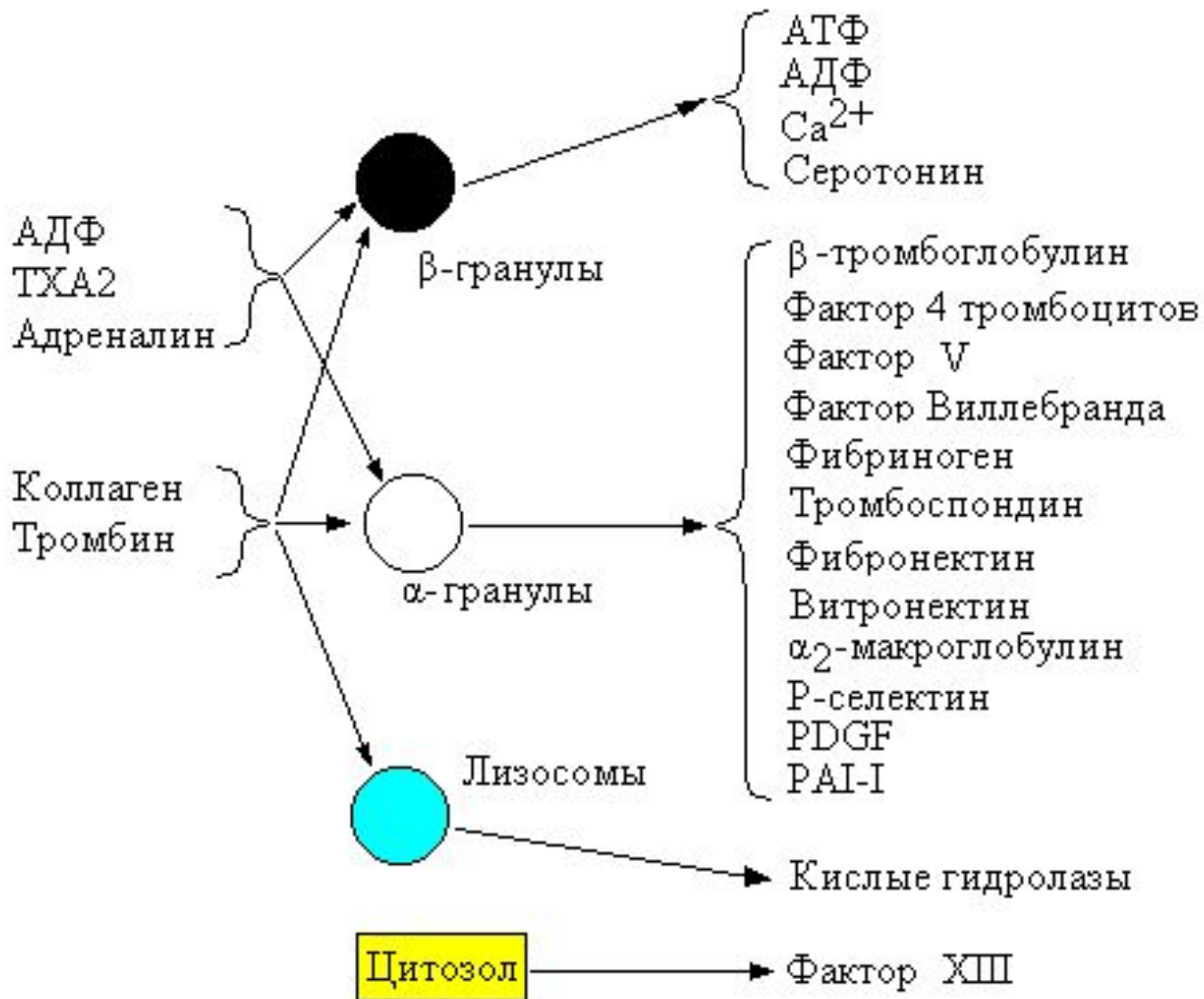
Микроскопическое строение тромбоцита

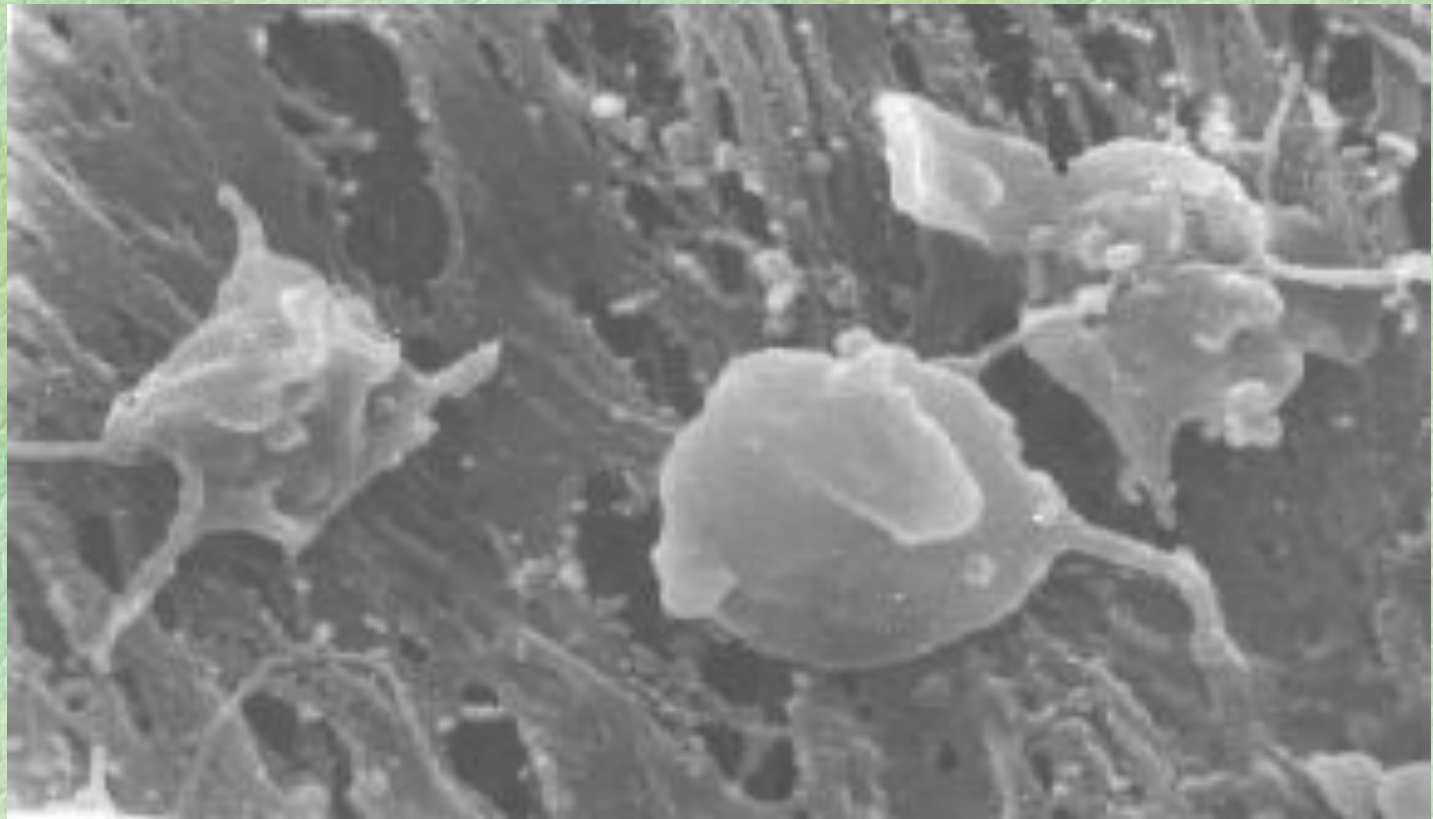


Факторы тромбоцитов

Активаторы

Секретируемые компоненты

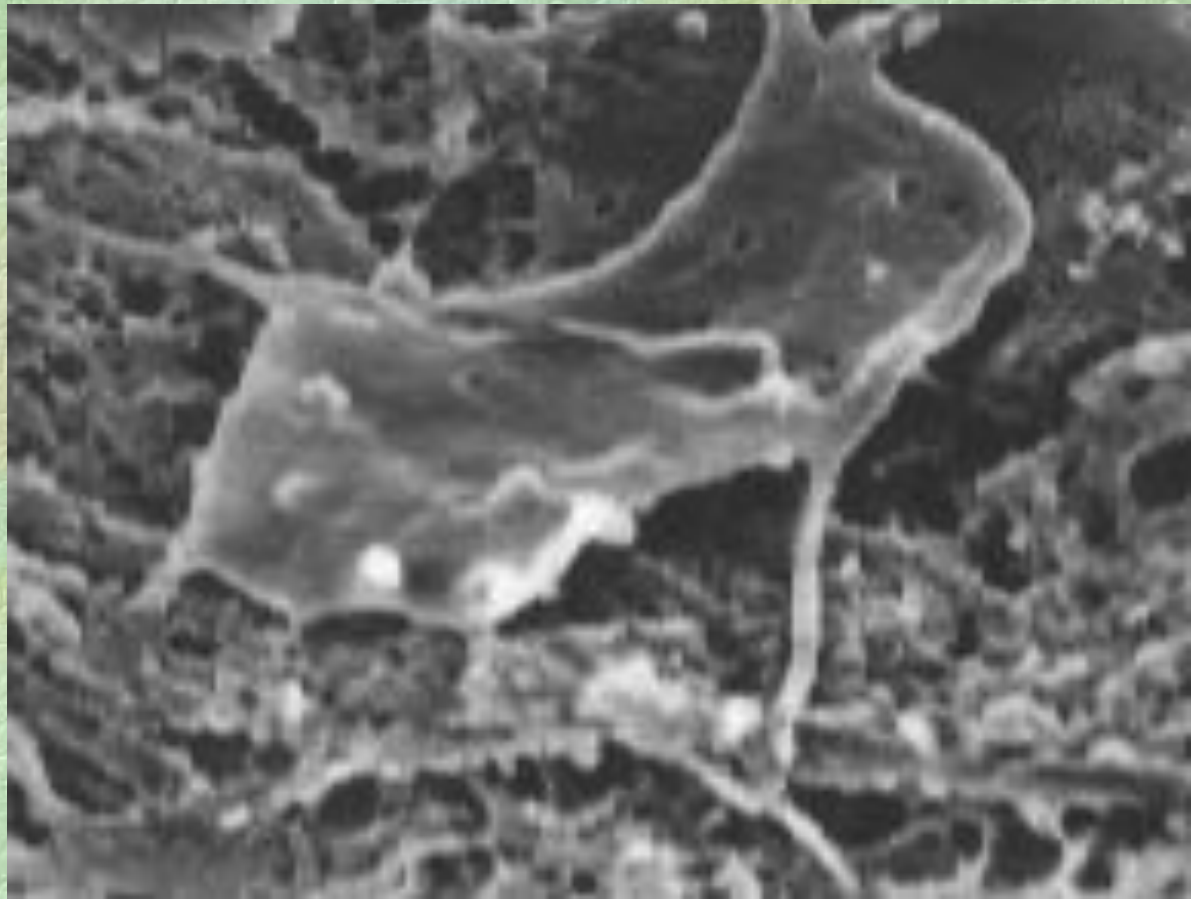




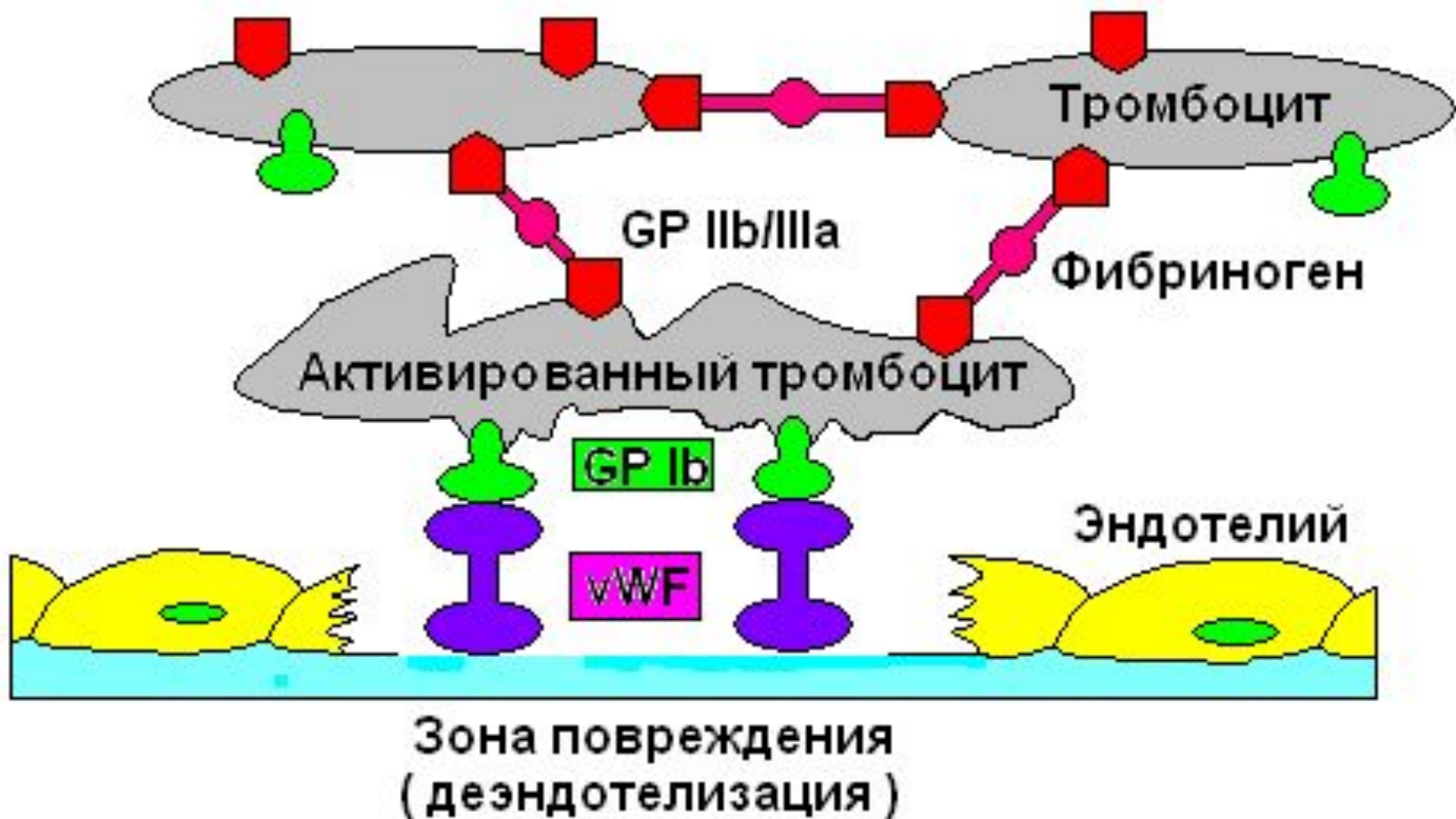
АДГЕЗИРОВАННЫЕ ТРОМБОЦИТЫ

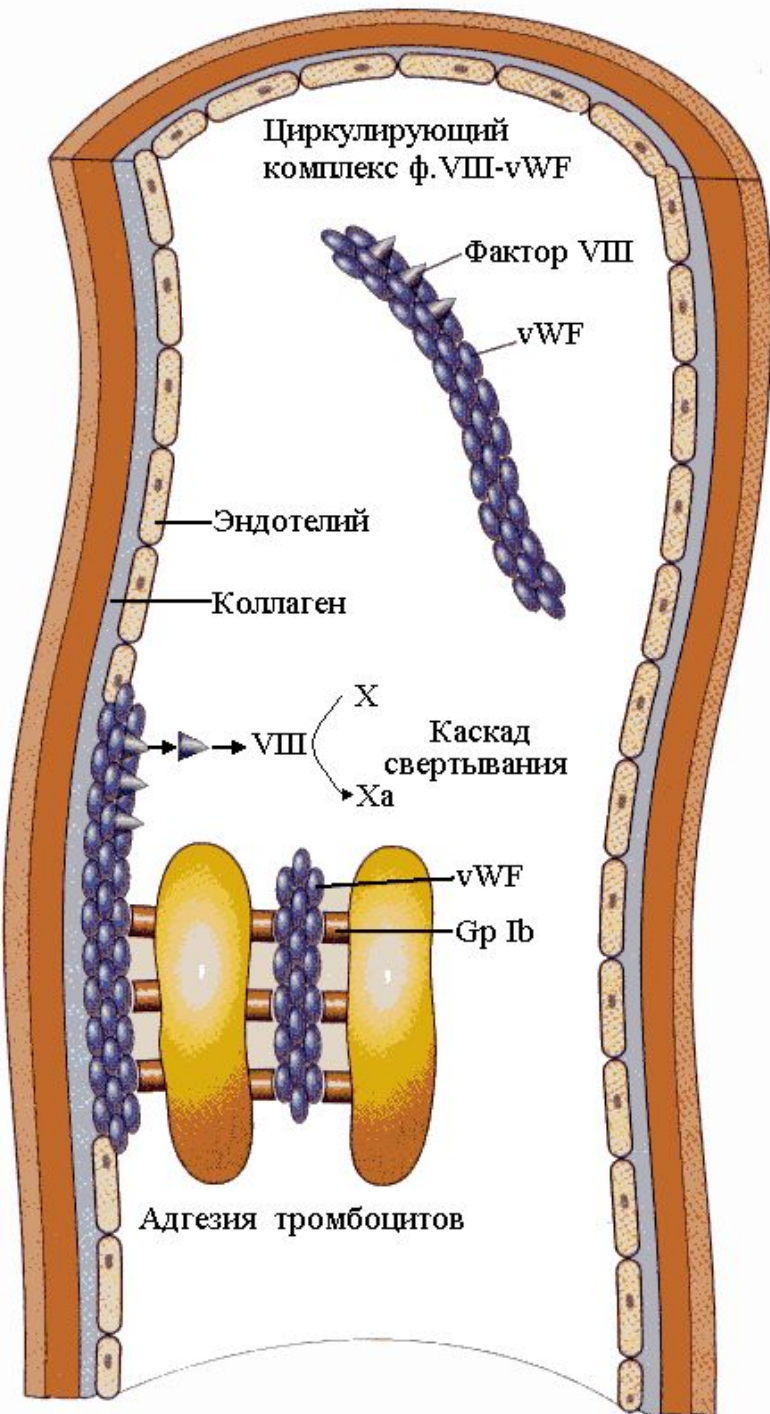
Микроагрегат





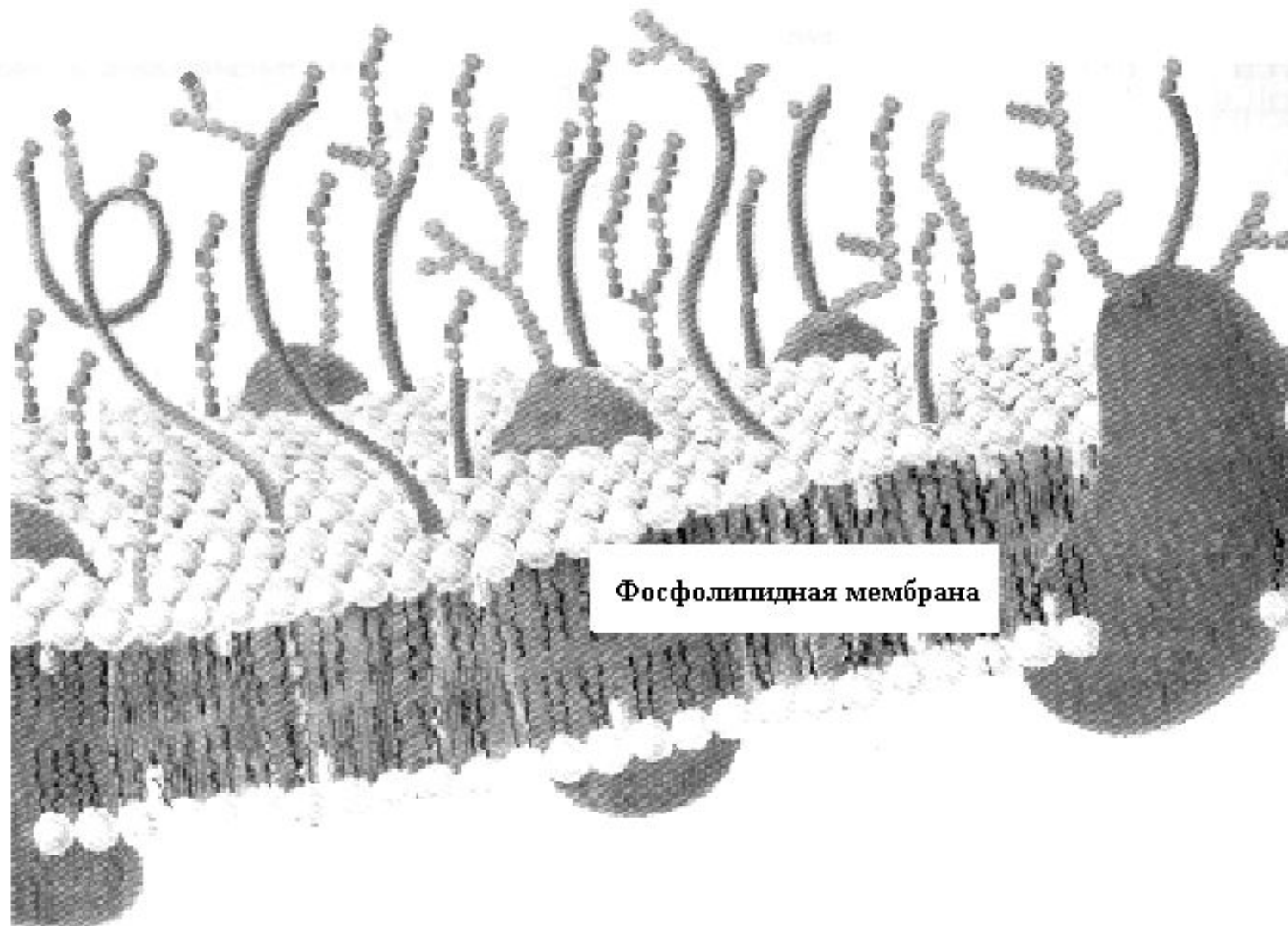
Адгезия и агрегация тромбоцитов





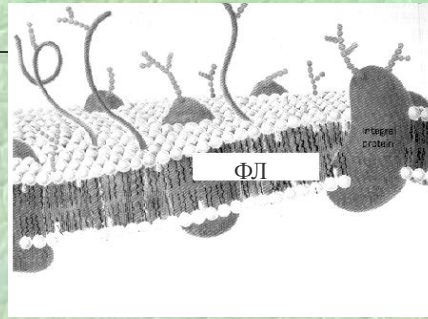
Комплекс фактор VIII-фактор Виллебранда (ф. VIII-vWF) состоит из 2 отдельных белков, которые выполняют в гемостазе разные функции, имеют разную химическую и иммунологическую структуру. Фактор VIII синтезируется главным образом в печени, он необходим для активации X фактора в каскаде свертывания крови, его дефицит вызывает гемофилию А. Фактор Виллебранда (vWF) – полимерный белок, который составляет основную массу комплекса, он синтезируется в эндотелии сосудов и мегакариоцитах, необходим для адгезии тромбоцитов к поврежденной стенке сосудов

Модель клеточной мембраны



Фосфолипаза С

диглицерид
моноглицерид



Фосфолипаза А₂

АРАХИДОНОВАЯ КИСЛОТА

5ГПЕТЕ

Липооксигеназа

Лейкоциты

Циклооксигеназа

ПГG₂

Пероксидаза

ПГH₂

*Простагландин-
синтетаза*

ПГI₂

Изомераза

ПГD₂

ПГE₂

Редуктаза

ПГF_{2α}

*Тромбоксан-
синтетаза*

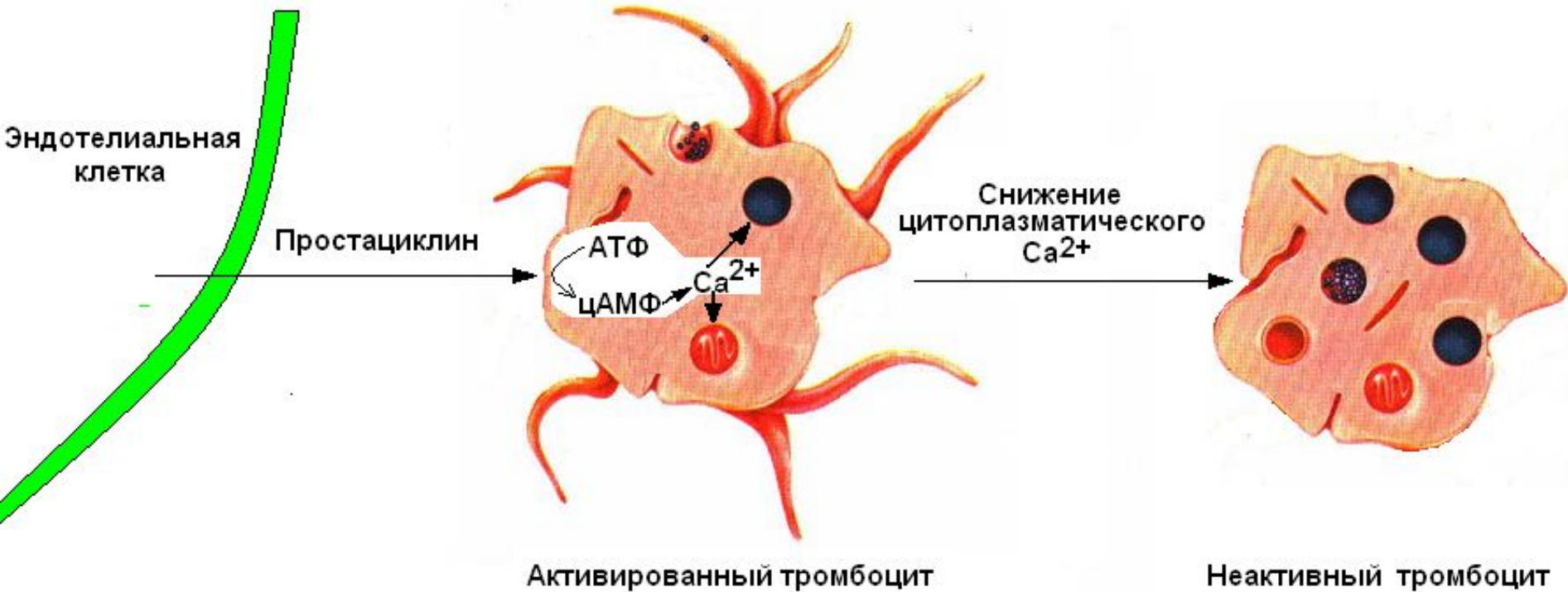
TxA₂

МДА

Эндотелиальные клетки

Тромбоциты

Эндотелий ингибирует активацию тромбоцитов за счет выработки простациклина



ФОСФОЛИПИДЫ

Фосфолипаза A₂

Подавление противовоспалительными стероидными препаратами

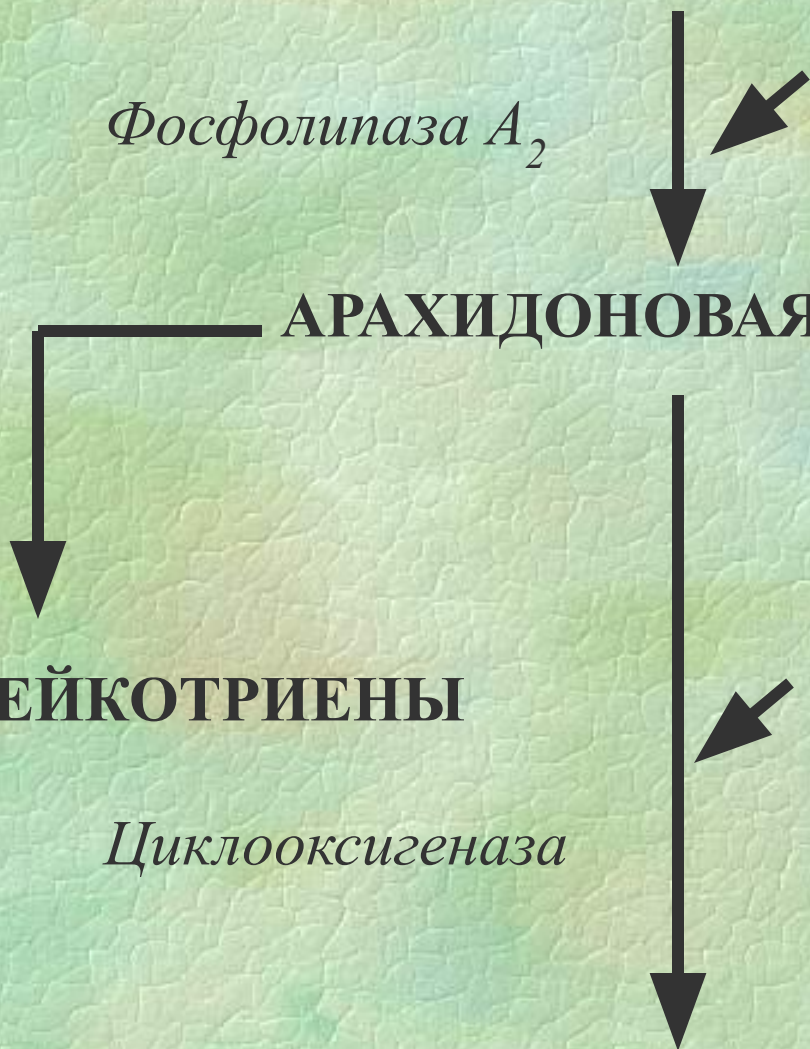
АРАХИДОНОВАЯ КИСЛОТА

ЛЕЙКОТРИЕНЫ

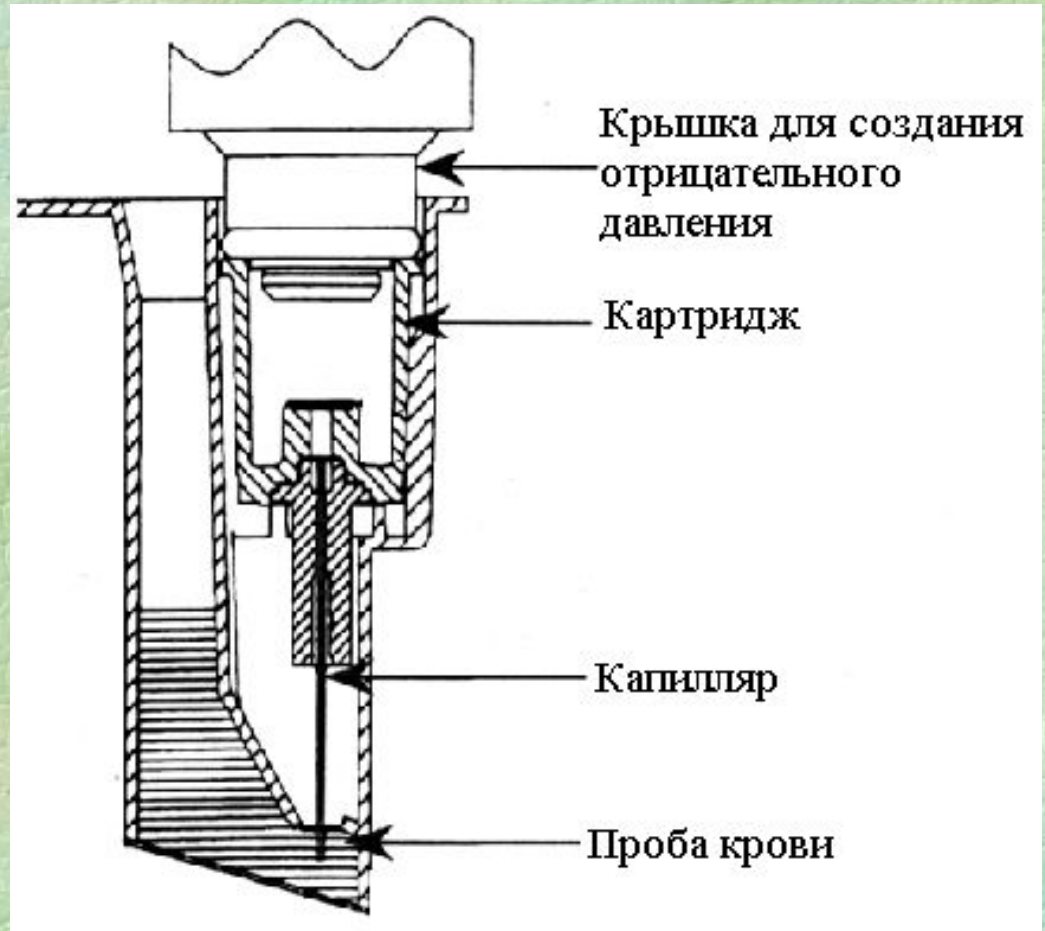
Циклооксигеназа

Подавление аспирином, индометацином, фенилбутазоном

ПРОСТАГЛАНДИНЫ

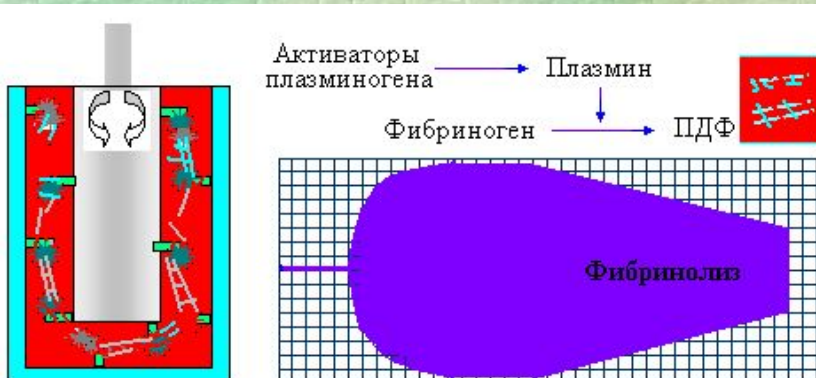
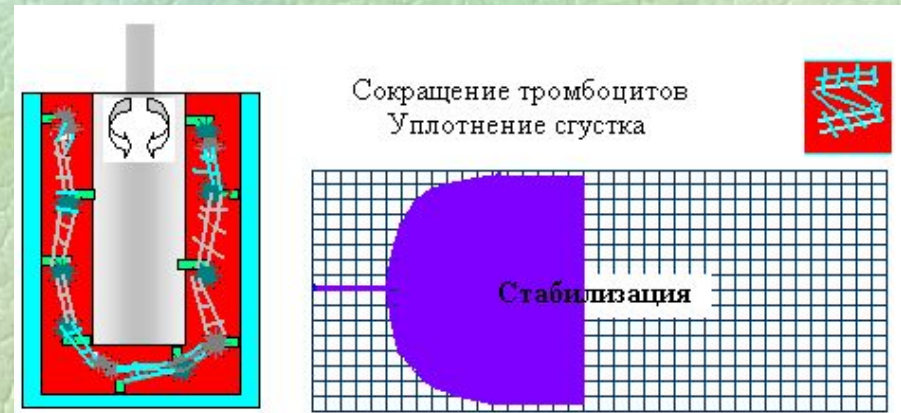


Динамический тромбоэластограф RFA-100. Имитация первичного гемостаза



образование тромбоцитарной пробки оценивается по перфузионному давлению

Тромбоэластография

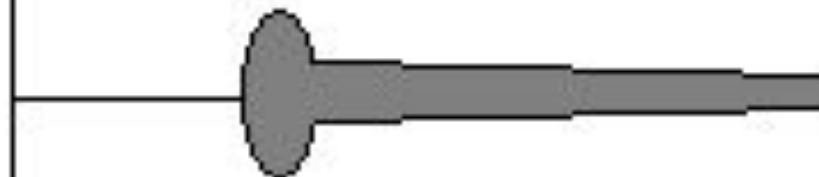


Последовательные этапы формирования сгустка крови

Типичные примеры измененных ТЭГ



Норма



Гиперфибринолиз



Тромбоцитопения



Гиперкоагуляция

Тромбоэластограф ROTEG. Оценивает стадии образования, стабилизации и лизиса сгустка цельной крови, имеет 4 параллельных канала, может быть использован для оценки влияния лекарственных препаратов на свертывание



Агрегация тромбоцитов,
повреждение сосудистой стенки

Тканевой
тромбопластин

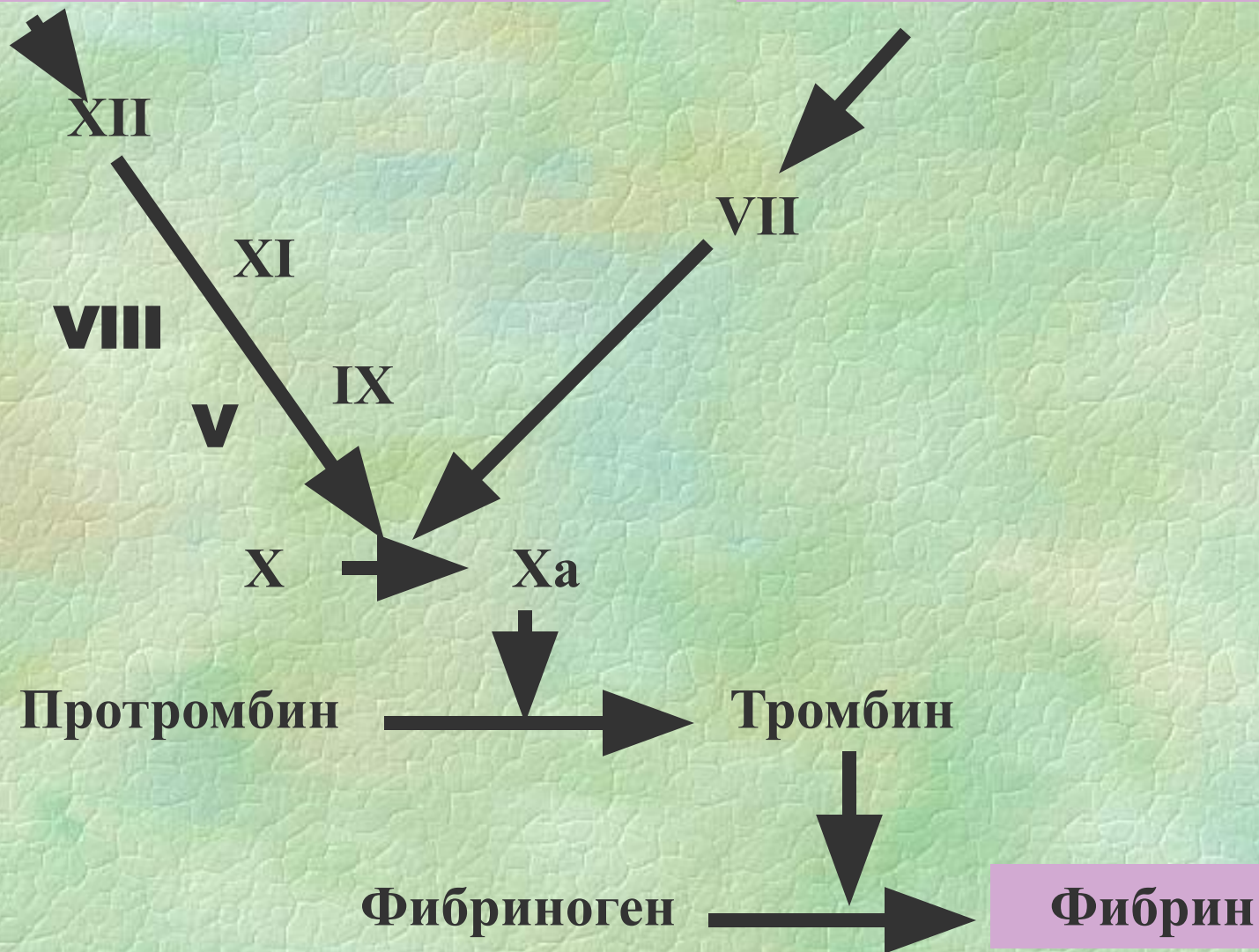
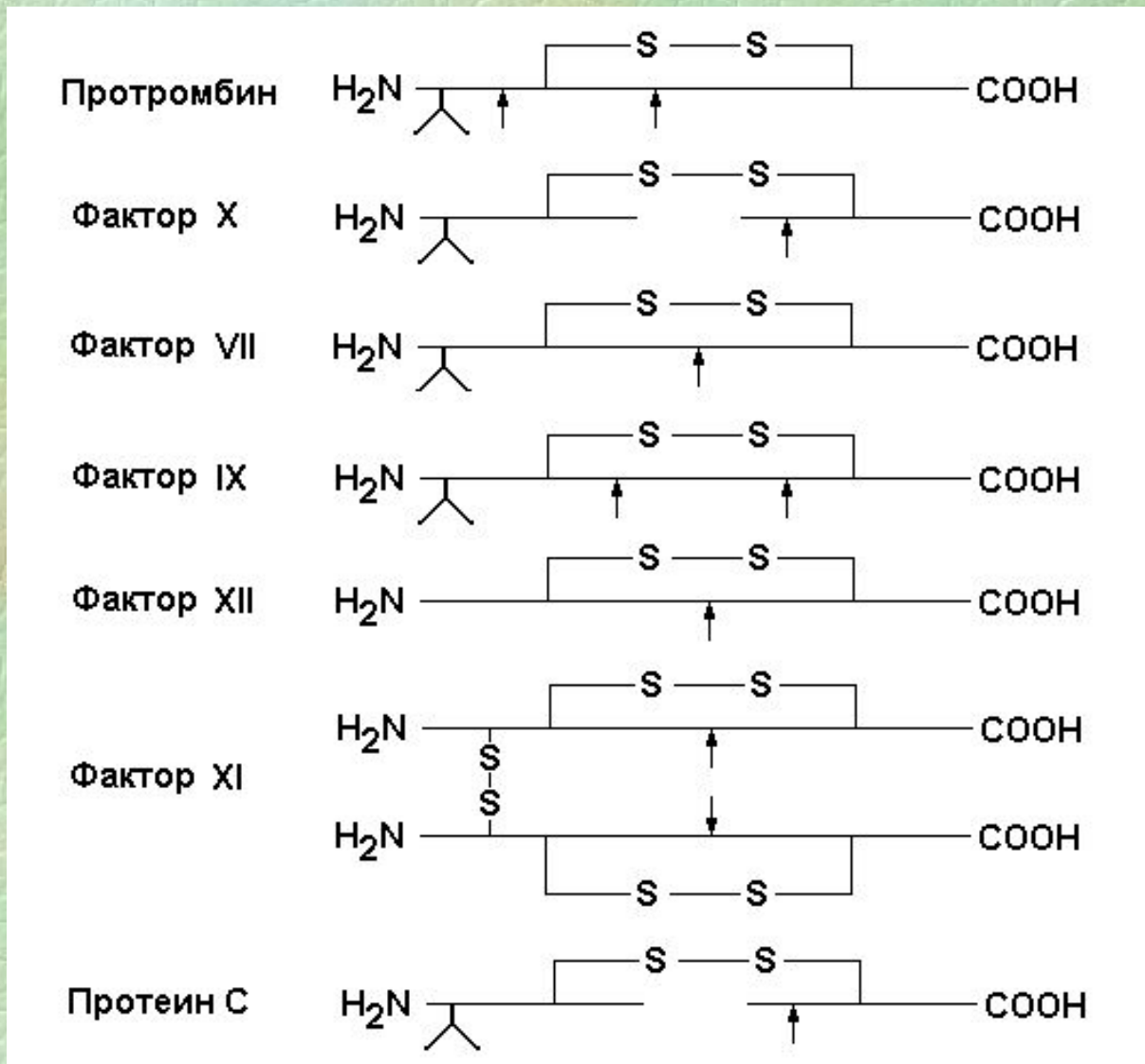
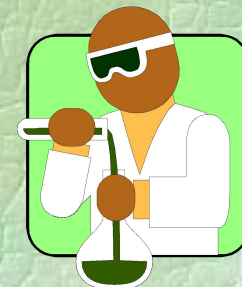


СХЕМА СТРОЕНИЯ И УЧАСТКОВ ПРОТЕОЛИЗА ПЛАЗМЕННЫХ ФАКТОРОВ



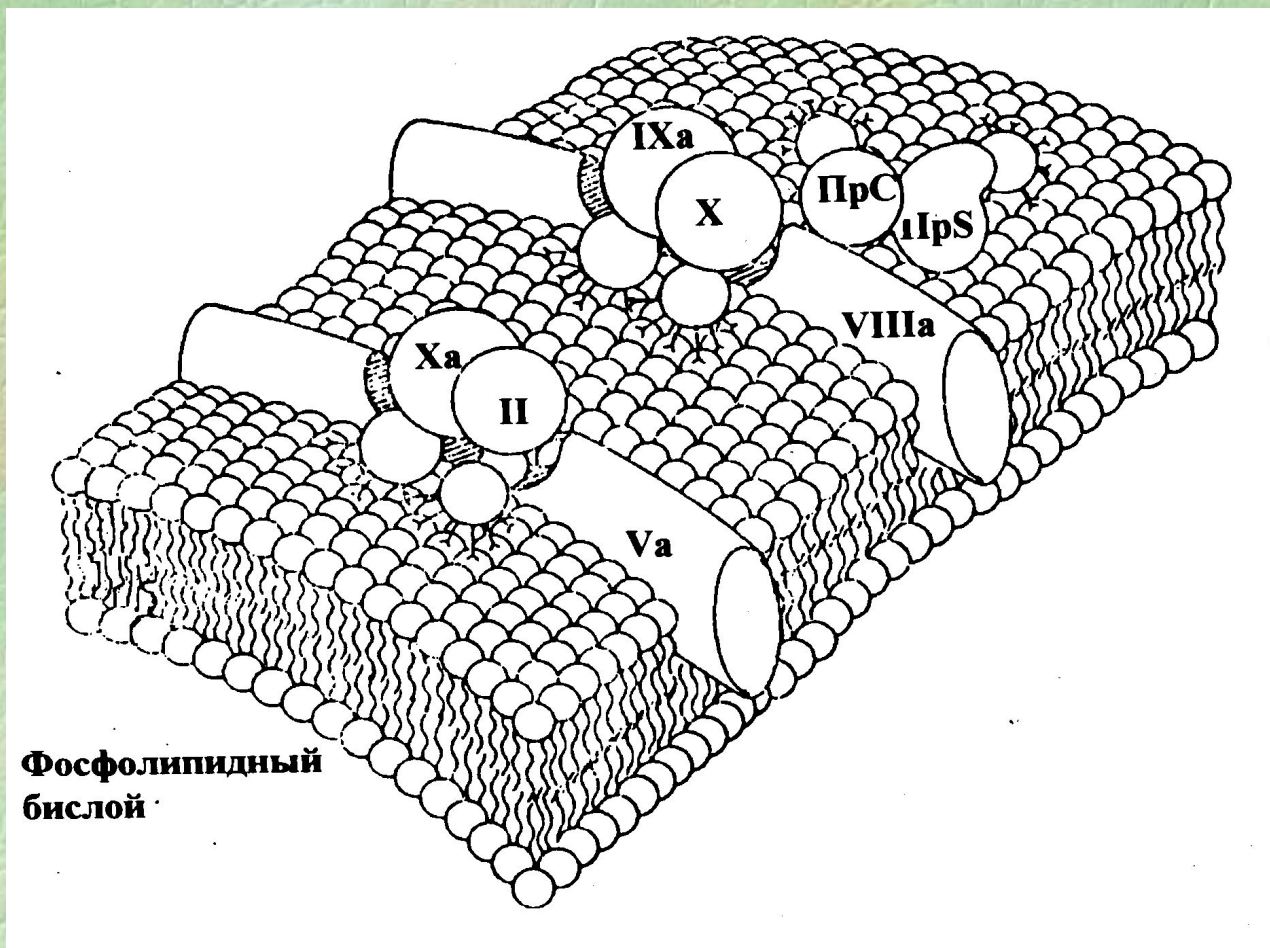
КОМПЛЕКСЫ ПРИ АКТИВАЦИИ ПЛАЗМЕННЫХ ФАКТОРОВ



Факторы-субстраты протеолитических систем гемостаза

Фермент	Субстрат	Ко-фактор
Xa	Протромбин	Va, Ca, ФЛ
IXa	X	VIIa, Ca, ФЛ
VIIa	X, IX	Тромбопластин
IIa	Протеин C	Тромбомодулин, эндотелий
XIIa	Прекаллекреин, XI	ВМК, поверхность
Каллекреин	XII	ВМК, поверхность
Протеин C	Va , VIIa	Протеин S, Ca, ФЛ

Сборка комплексов плазменных факторов на VIIIa и Va факторах, интернализированных в фосфолипидную мембрану



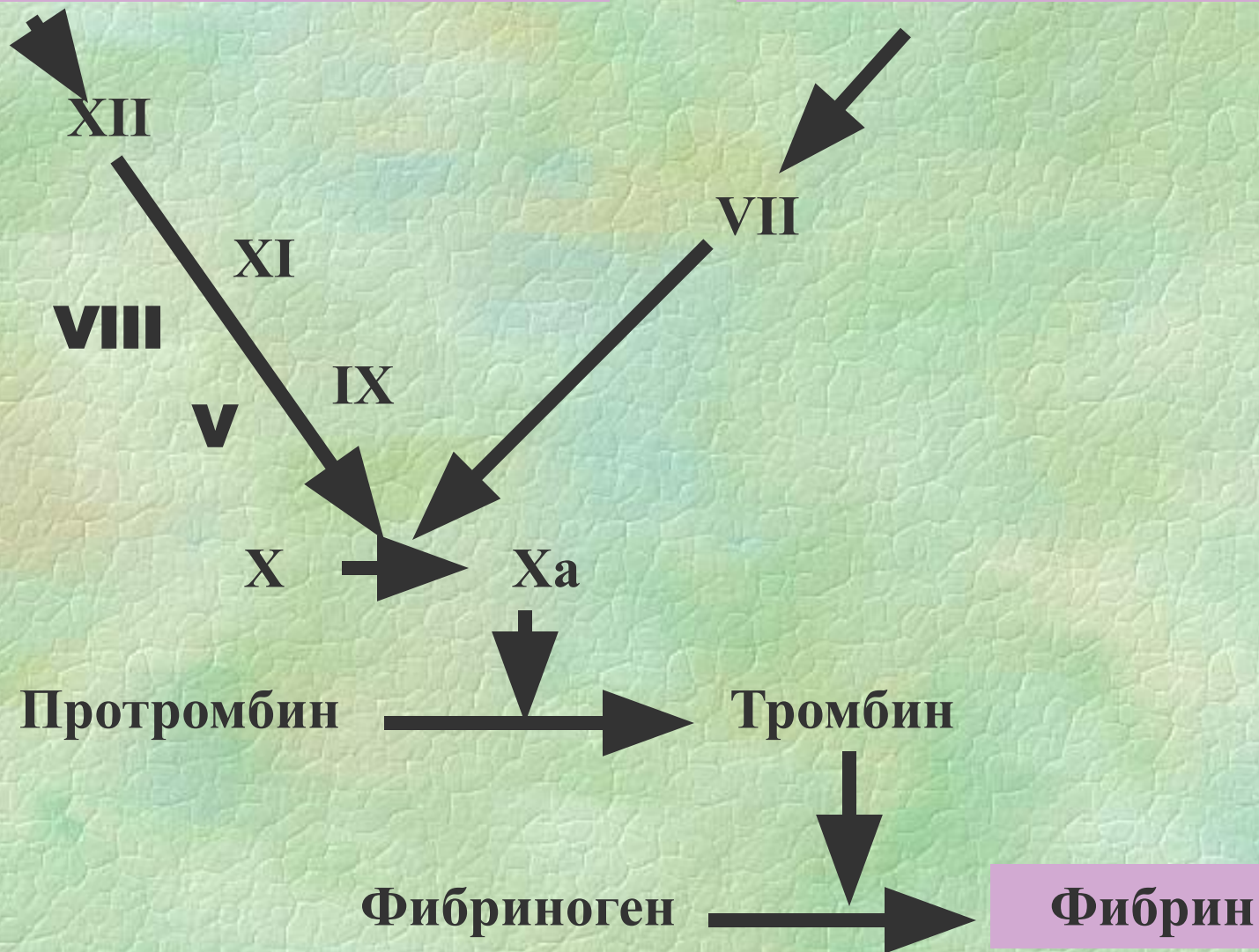
Каскад усиления свертывания крови



Рисунок 1.
Каскадное усиление системы свертывания крови.

Агрегация тромбоцитов,
повреждение сосудистой стенки

Тканевой
тромбопластин



Международное Нормализованное Отношение



Международным Комитетом по тромбозам и гемостазу рекомендован тест протромбиновое время (ПВ) с оценкой результатов по МНО

$$МНО = \left(\frac{\langle ПВ \cdot \text{больного} \rangle}{\langle ПВ \cdot \text{донорской пул. плазмы} \rangle} \right)^{МИЧ}$$

При определении ПВ больного и стандартной плазмы с любым тромбопластином, учитывая международный индекс чувствительности (МИЧ или ISI тромбопластина, получают относительное значение, в английской аббревиатуре) используемого тромбопластина Международный стандарт ВОЗ, МИЧ которого принят за 1,0. Эту величину и принято называть Международным Нормализованным Отношением – МНО (INR -

английская аббревиатура). МИЧ для различных тромбопластинов варьирует от 0,9 до 2,8. Чем выше значение МИЧ, тем менее чувствителен к изменению содержания компонентов протромбинового комплекса тромбопластин и, следовательно, тем больше может быть ошибка в определении ПВ. Использование тромбопластинов с МИЧ 1,4 - 1,5 обеспечивает хорошее совпадение результатов даже при низких дозах не прямых антикоагулянтов. Основная цель, которую преследовало введение МНО, состояла в обеспечении оптимизации терапии оральными антикоагулянтами, а для лаборатории это еще освобождение от необходимости построения калибровочного графика для каждой серии тромбопластинов.

Рекомендуемый диапазон МНО при терапии непрямыми антикоагулянтами

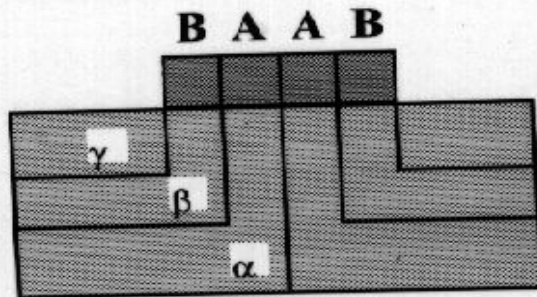
Показатели	МНО
Профилактика системных тромбоэмболий Послеоперационная профилактика венозного тромбоза Лечение флеботромбоза и легочной тромбоэмболии Преходящие нарушения мозгового кровообращения Постинфарктная профилактика венозного тромбоза Мерцание предсердий Нестабильная стенокардия Пороки клапанов сердца Биологические протезы сердечных клапанов	2,0 - 3,0
Рецидивирующий тромбоз глубоких вен Инфаркт миокарда Механические протезы сердечных клапанов Рецидивирующие системные тромбоэмболии	3,0 - 4,5



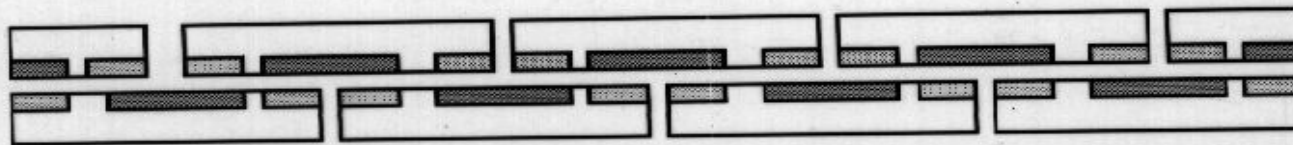
Формирование фибрина



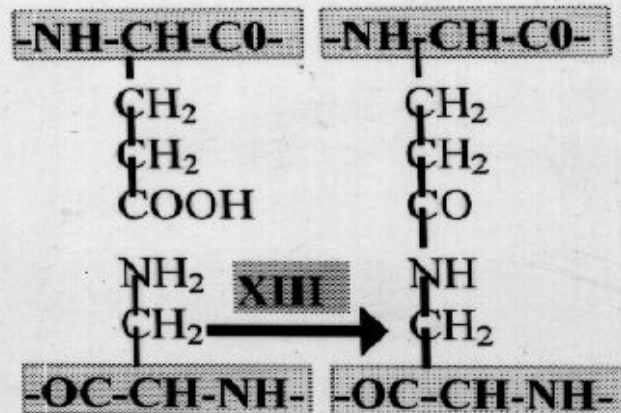
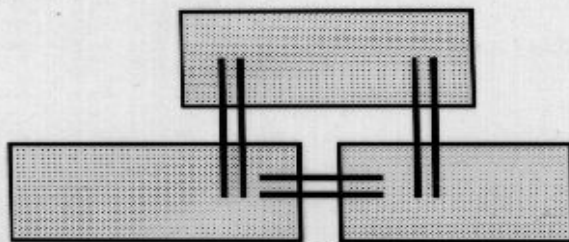
1. Активация



2. Полимеризация



3. Стабилизация



ФИБРИНОЛИЗ



АКТИВАТОРЫ ФИБРИНОЛИЗА

Внутренний механизм

Внешний механизм

Фактор XII-
зависимый

Фактор XII-
независимый

Эндотели-
альный

Ткане-
вой

Другие

XII \square XIIa

Протеины C
+ S

Тканевой
активатор

Уроки
наза

Стрепто-
киназа

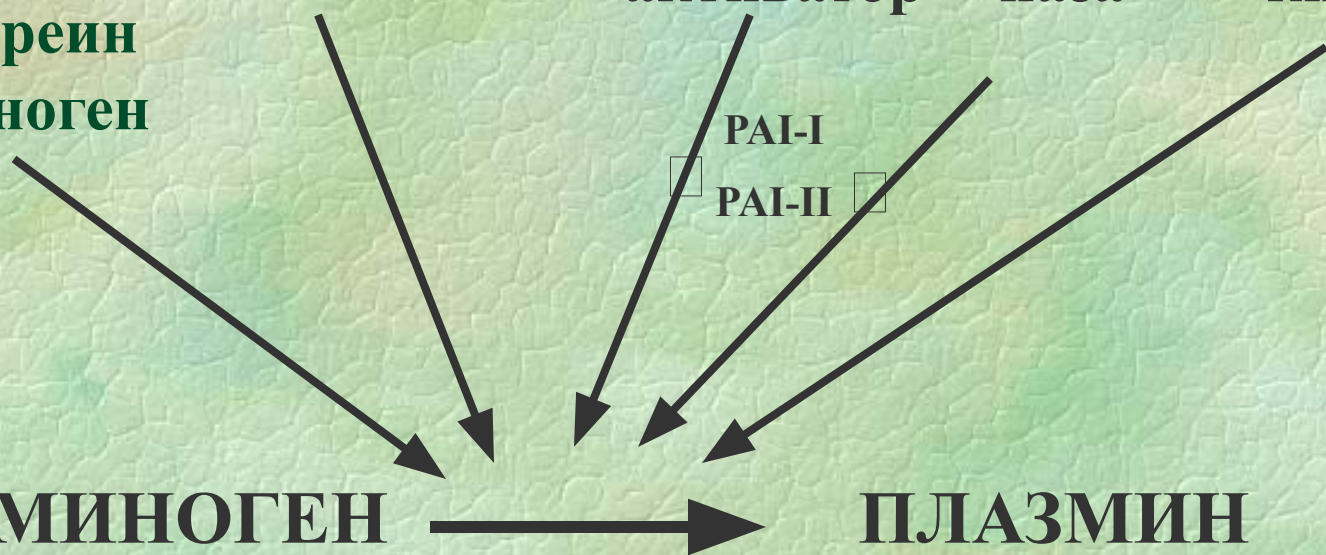
Прекаллекреин
+ ВМ кининоген

PAI-I

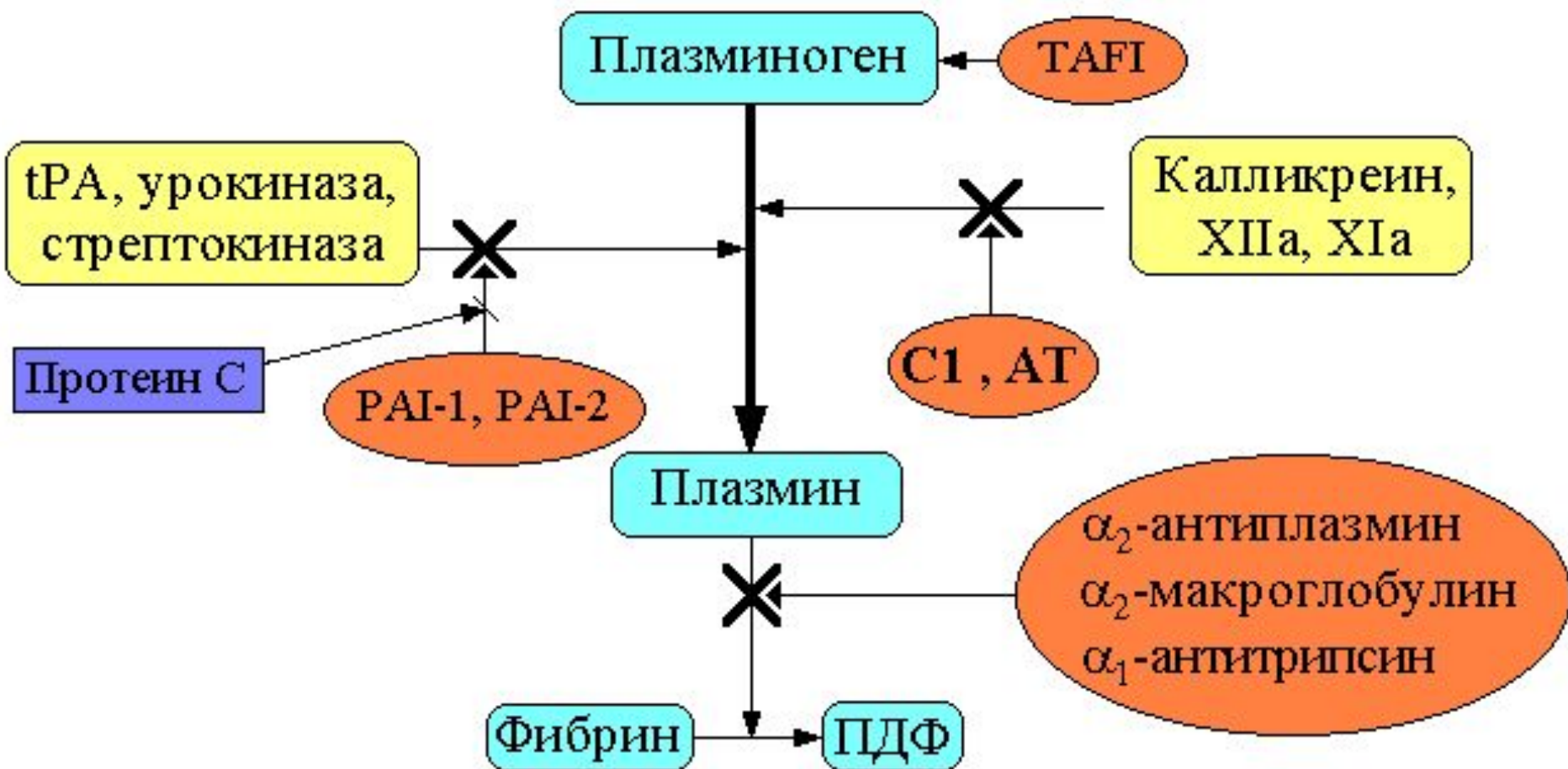
PAI-II

ПЛАЗМИНОГЕН

ПЛАЗМИН

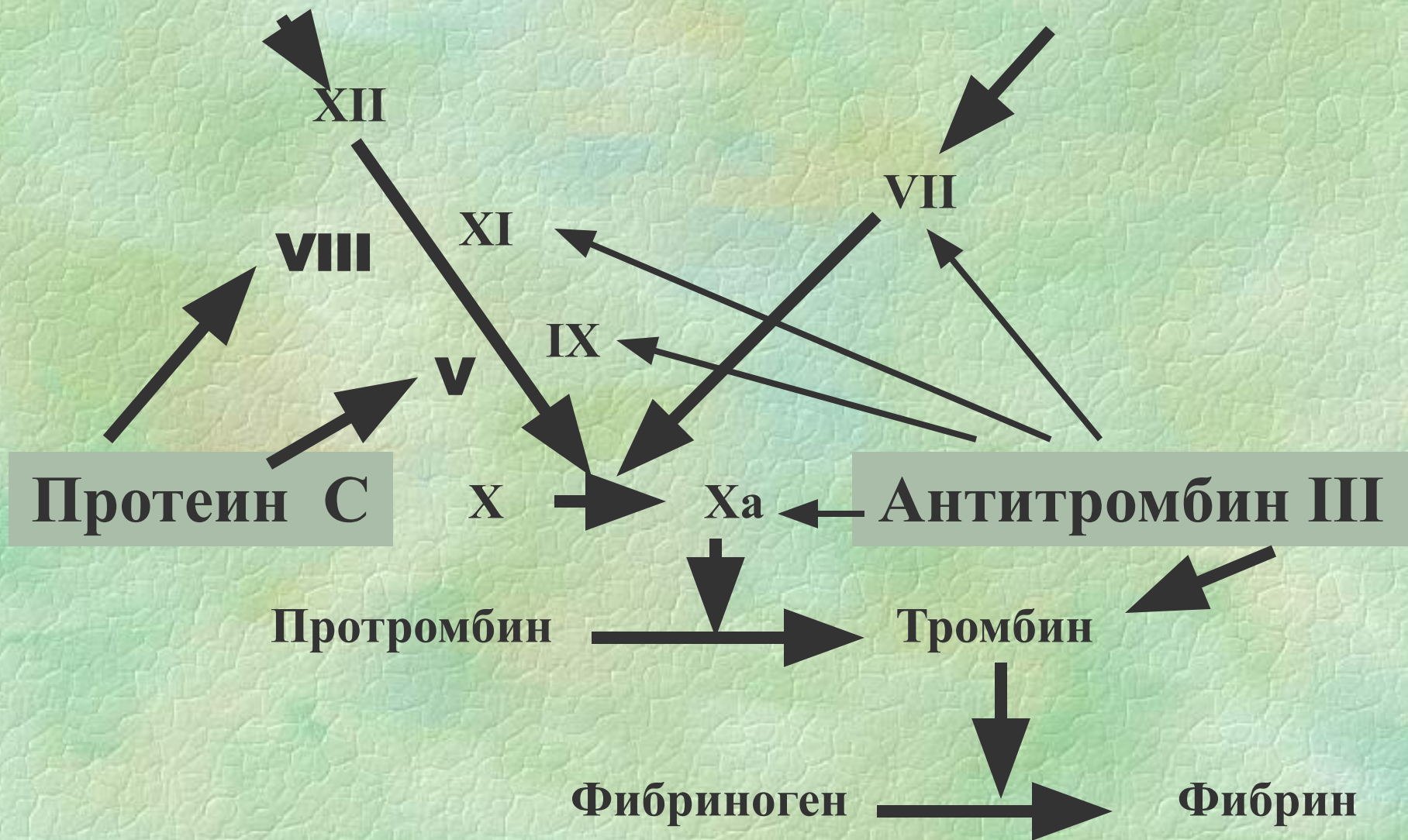


Ингибиторы фибринолиза

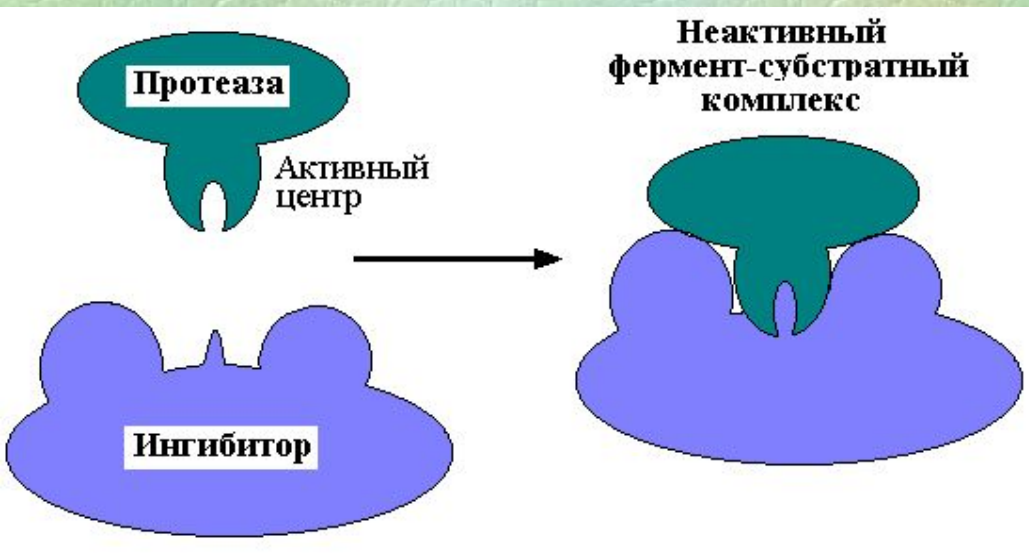


Агрегация тромбоцитов,
повреждение сосудистой стенки

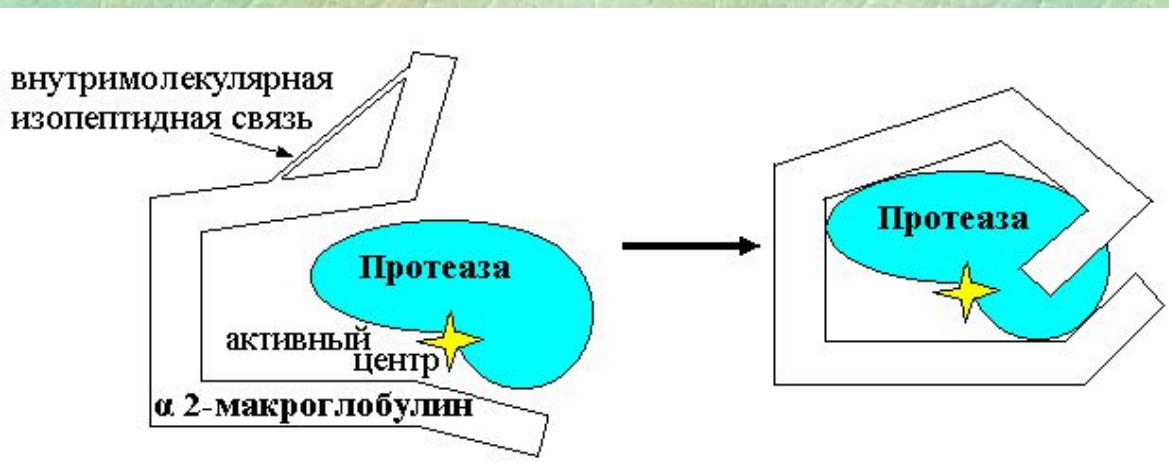
Тканевой
тромбопластин



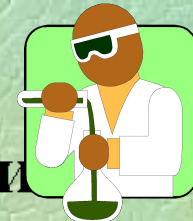
Ингибиторы протеаз



Ингибирование активных сериновых протеаз серпинами за счет образования стабильного неактивного фермент-субстратного комплекса



Ингибирование активных протеаз за счет погружения фермента внутрь макромолекулы α_2 -макроглобулина

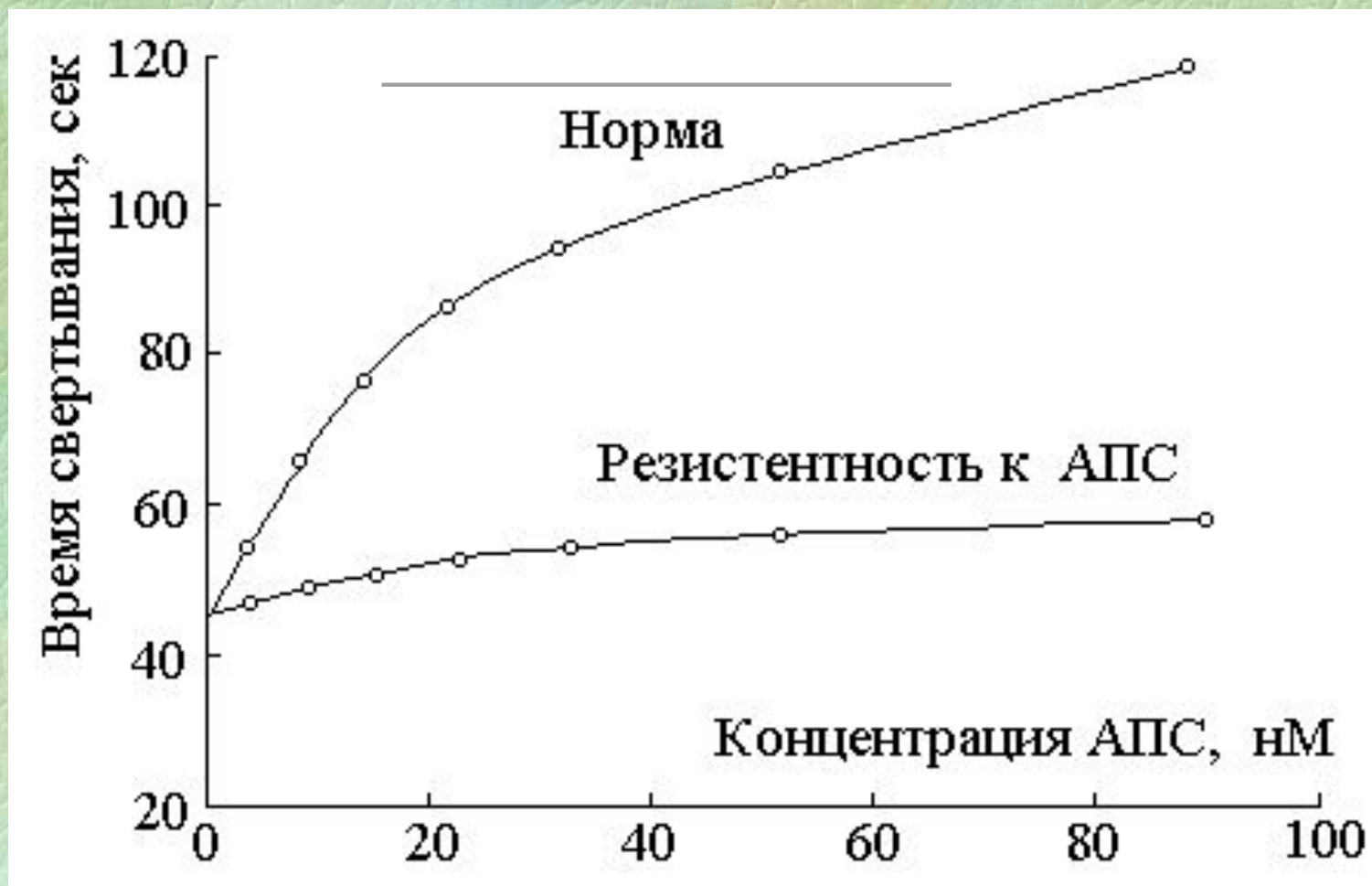


Терапевтический диапазон Анти-Ха при терапии фракционированным гепарином

Мониторинг антикоагулянтной терапии при лечении фракционированным гепарином основывается на тесте анти-Ха (анти-Ха МЕ/мл), предваряющим очередное введение препарата, так как значения АЧТВ остаются в пределах нормы или удлиняются незначительно. Тест анти-Ха заключается в измерении оставшегося Ха с использованием специфического хромогенного субстрата.

Препарат	Показания	Дозировка	Анти-Ха (МЕ/мл)
Фрагмин, фраксипарин	Профилактика венозного тромбоза	2000 - 2500 МЕ 1 раз в день	Мониторинг не требуется
ловенокс, клексан	Профилактика венозного тромбоза - высокий риск	4000 - 5000 МЕ 1-2 раза в день	0,2 - 0,4
Дальтепарин, ревиварин, эноксипарин	Интенсивная терапия при инфаркте миокарда, венозных и артериальных тромбозах	100-120 МЕ/кг веса п/к 2 раза в сутки	0,3 МЕ/мл до инъекции, через 5 ч после инъекции
	Экстракорпоральное кровообращение, гемодиализ < 4 часов	Болус 3000 - 6000 МЕ	≈ 1,0
	Экстракорпоральное кровообращение, гемодиализ > 4 часов	Болус 2000 - 3000 МЕ 5000-10000- МЕ/ч	≈ 1,2

Резистентность к активированному протеину С (АПС) при мутации в гене, контролирующей синтез V фактора и приводящей к образованию фактора Лейдена



Идеология постановки тестов коагулограммы

Исследование системы гемостаза должно быть комплексным и включать тесты, характеризующие состояние сосудистой стенки, клеток крови и белков плазмы.

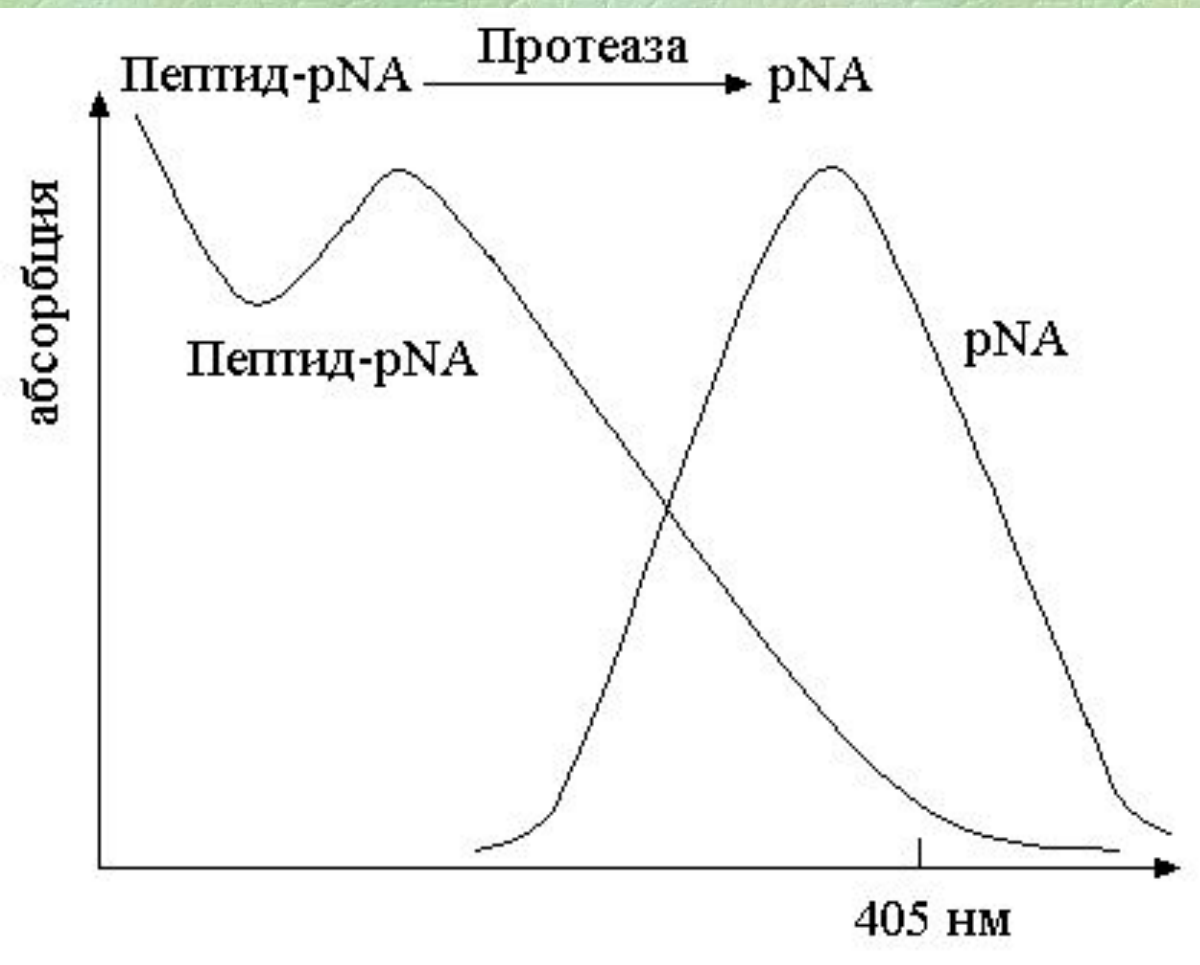
Скрининговые тесты, проводимые для оценки функционального состояния всей системы гемостаза или отдельных ее звеньев, часто бывают более полезными и значимыми для диагностики, чем отдельные дифференцирующие тесты на различные компоненты.

Динамический тромбоэластограф RFA-100. Он позволяет наблюдать *in vitro* за процессом закупорки сосуда при моделировании этого процесса в специально созданном картридже



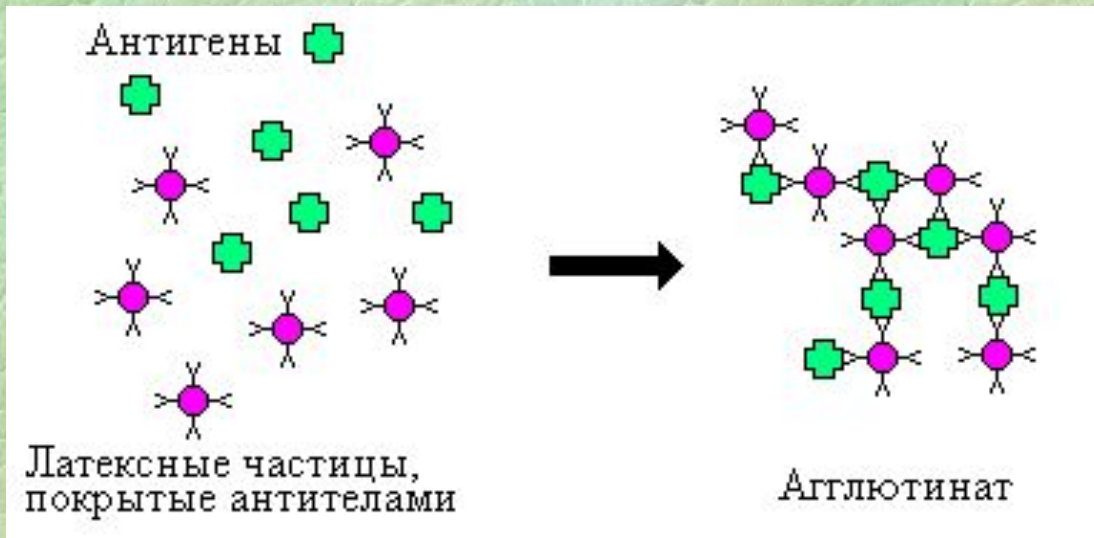
Датчик тромбоэластографа RFA-100 содержит капилляр, моделирующий микрососуд. В цельной крови, проходящей по капилляру, активируется образование сгустка. На стенках нанесен коллаген и адреналин или АДФ, которые являются первичной причиной запуска гемостаза.

Амидолитические методы с использованием хромогенных и флуорогенных субстратов

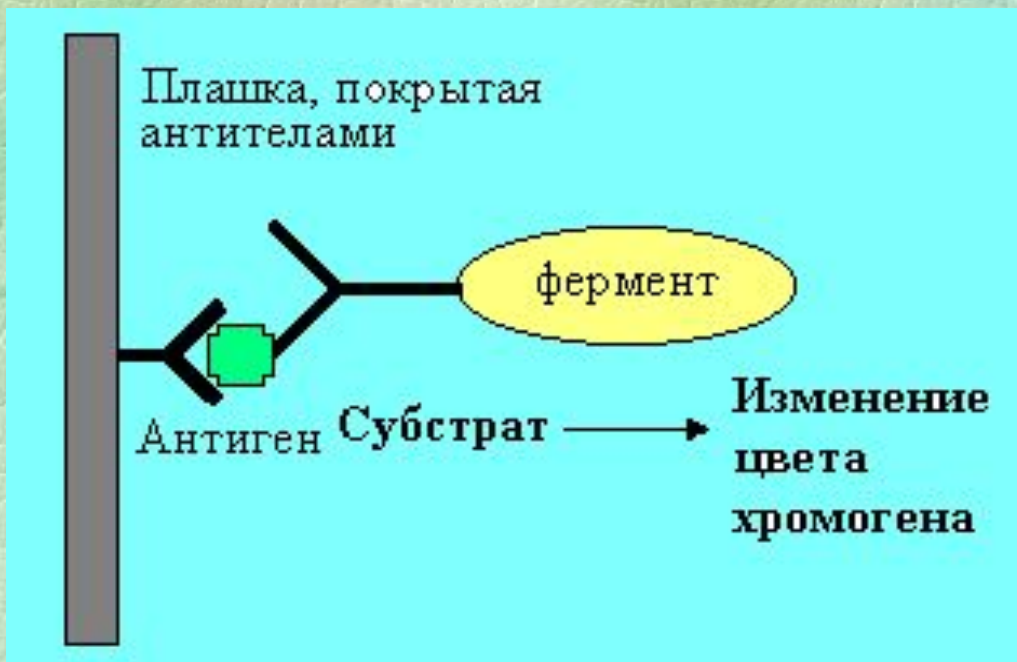


**Принцип
определения
активности
протеолитического
фермента (протеазы)
с использованием
хромогенного
субстрата**

Иммунохимические методы

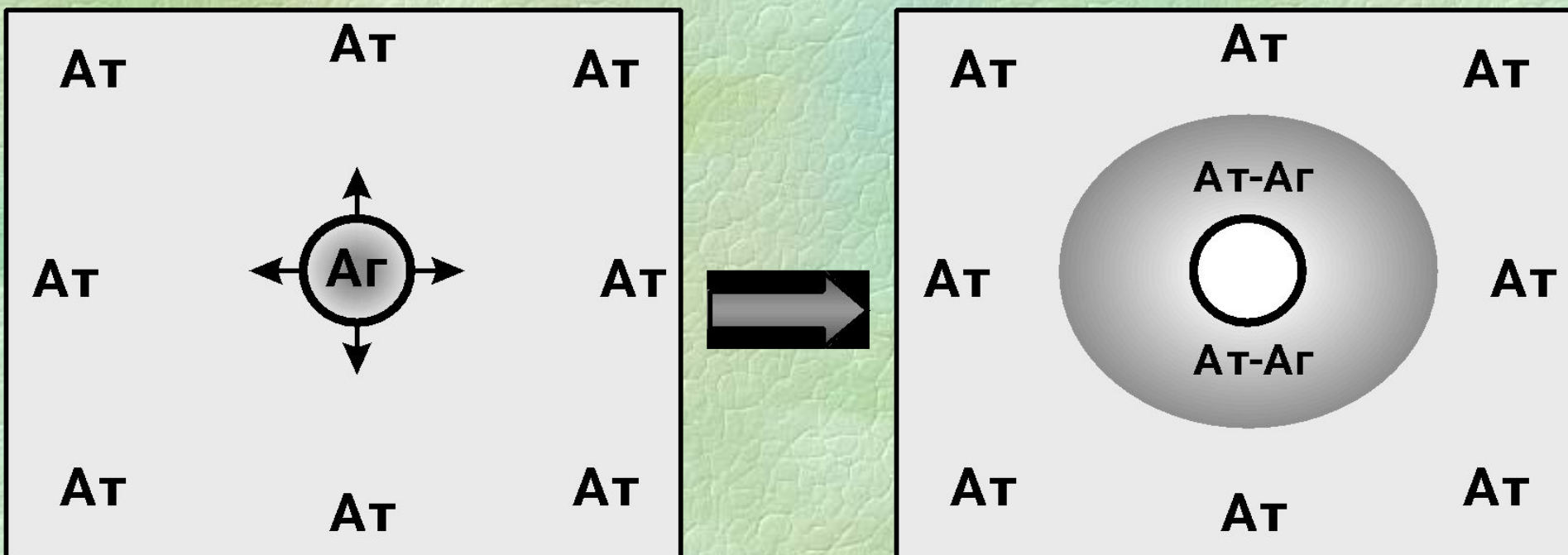


Принцип латекс-агглютинации

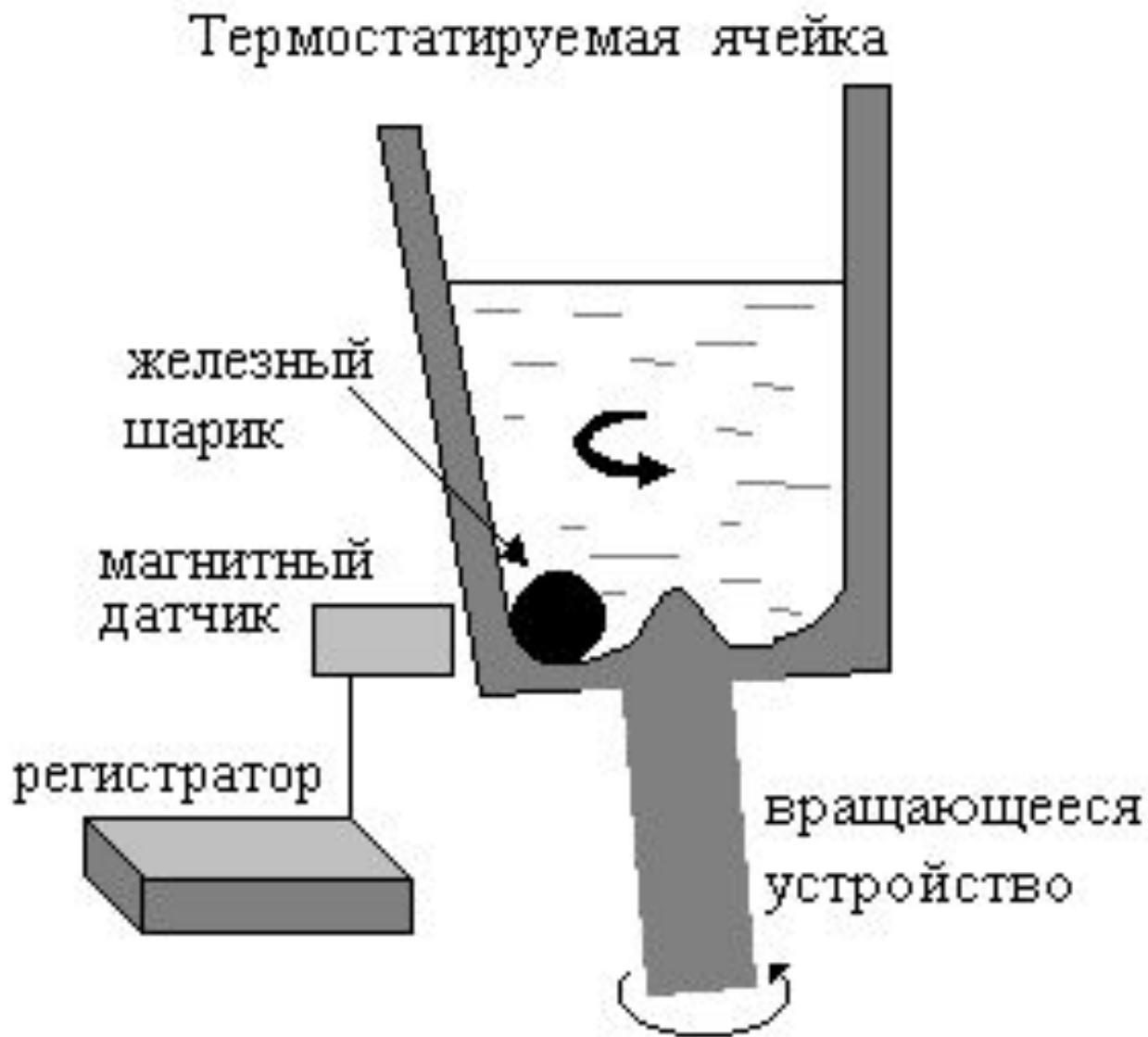


Принцип ELISA. На плашке, покрытой антителами против фактора гемостаза, связывается антиген

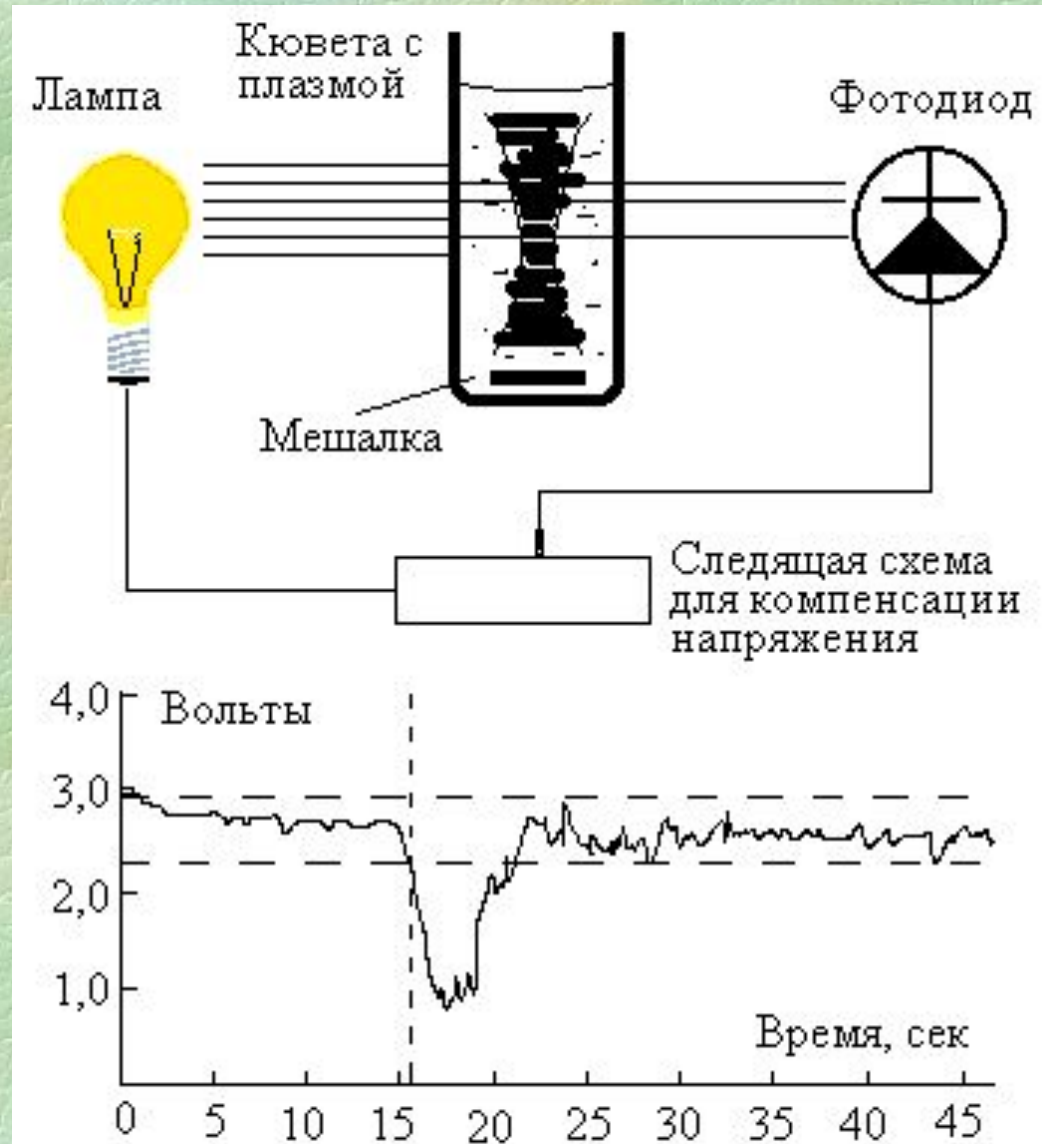
Принцип метода **радиальной иммунодиффузии**, используемый для полуколичественной оценки некоторых факторов гемостаза



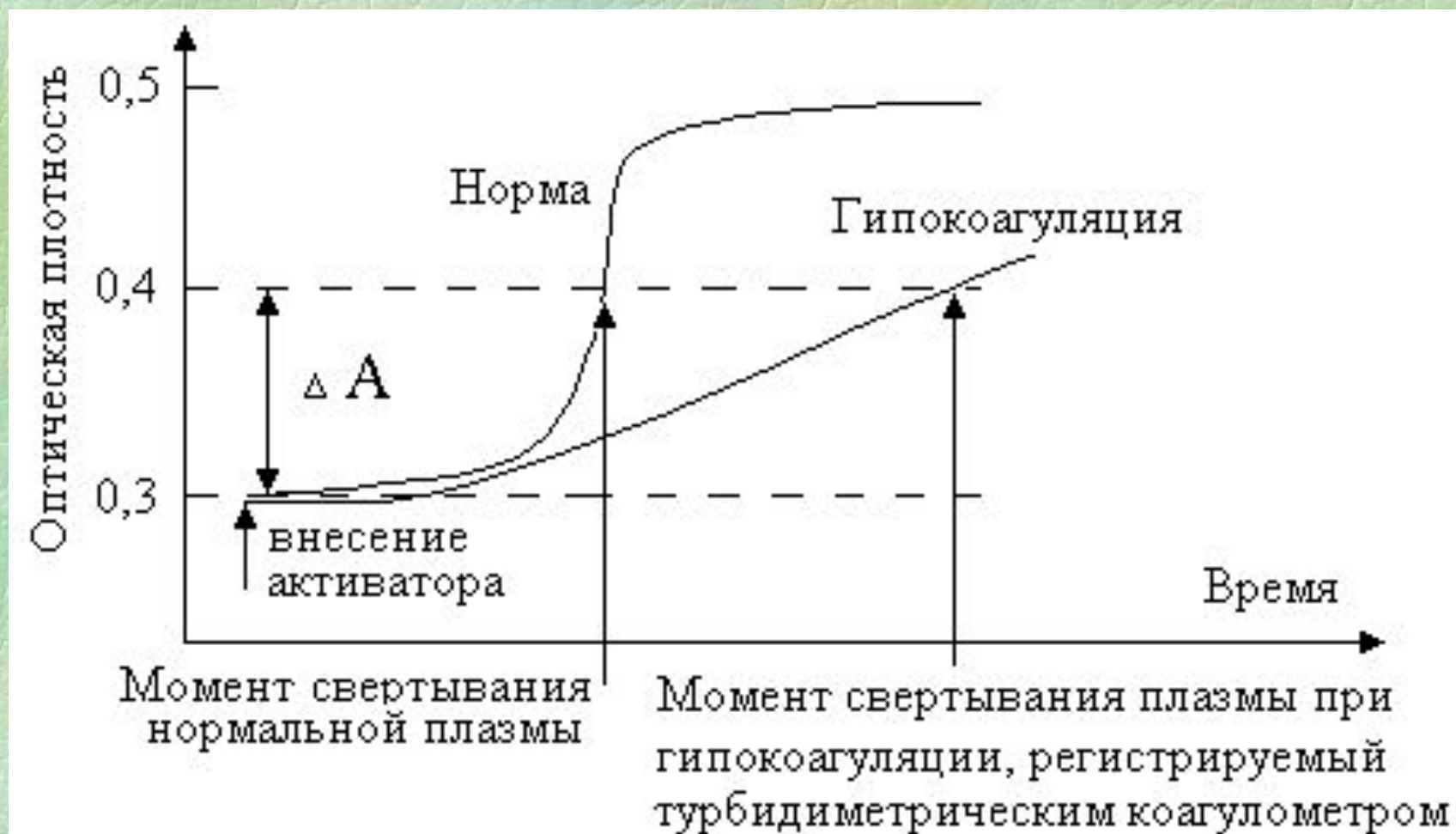
Принцип работы механического коагулометра



Принцип регистрации выпадающего фибрина оптико-механическим коагулометром



Принцип регистрации момента образования сгустка турбидиметрическим коагулометром.



Линейка коагулометров фирмы Sysmex



**Коагулометр
СА-50, 4-
канальный,
выполняются
тесты: ПВ,
АЧПВ, ТВ,
МНО, АТ,
фибриноген**



**Автоматический
коагулометр
СА-500** Делает
клоттинговые
тесты ,
хромогенные
тесты и др. До 33
тестов в час

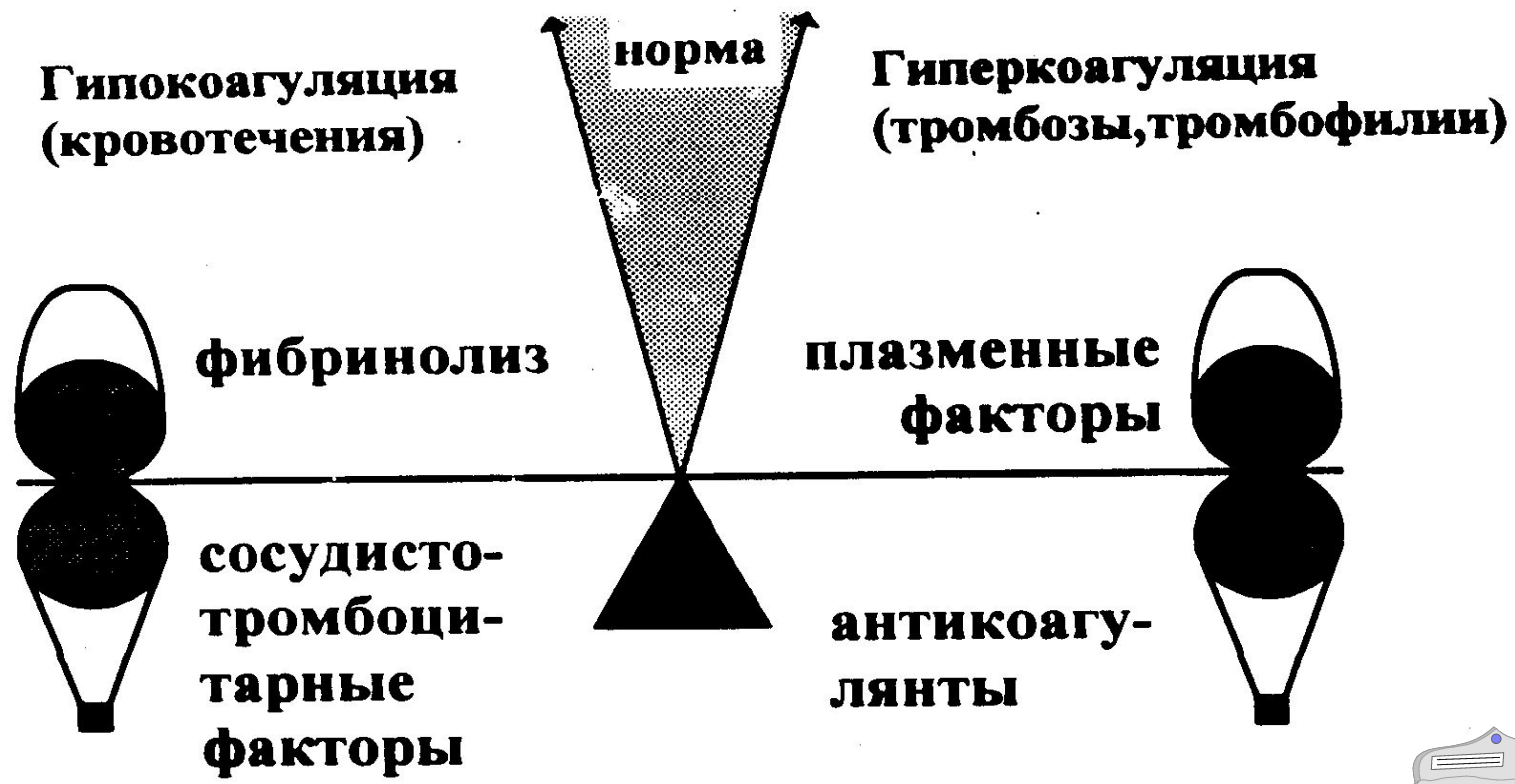


**Автоматический
коагулометр
СА-1500**
Выполняет
клоттинговые,
хромогенные и
турбидиметричес
кие тесты До 80

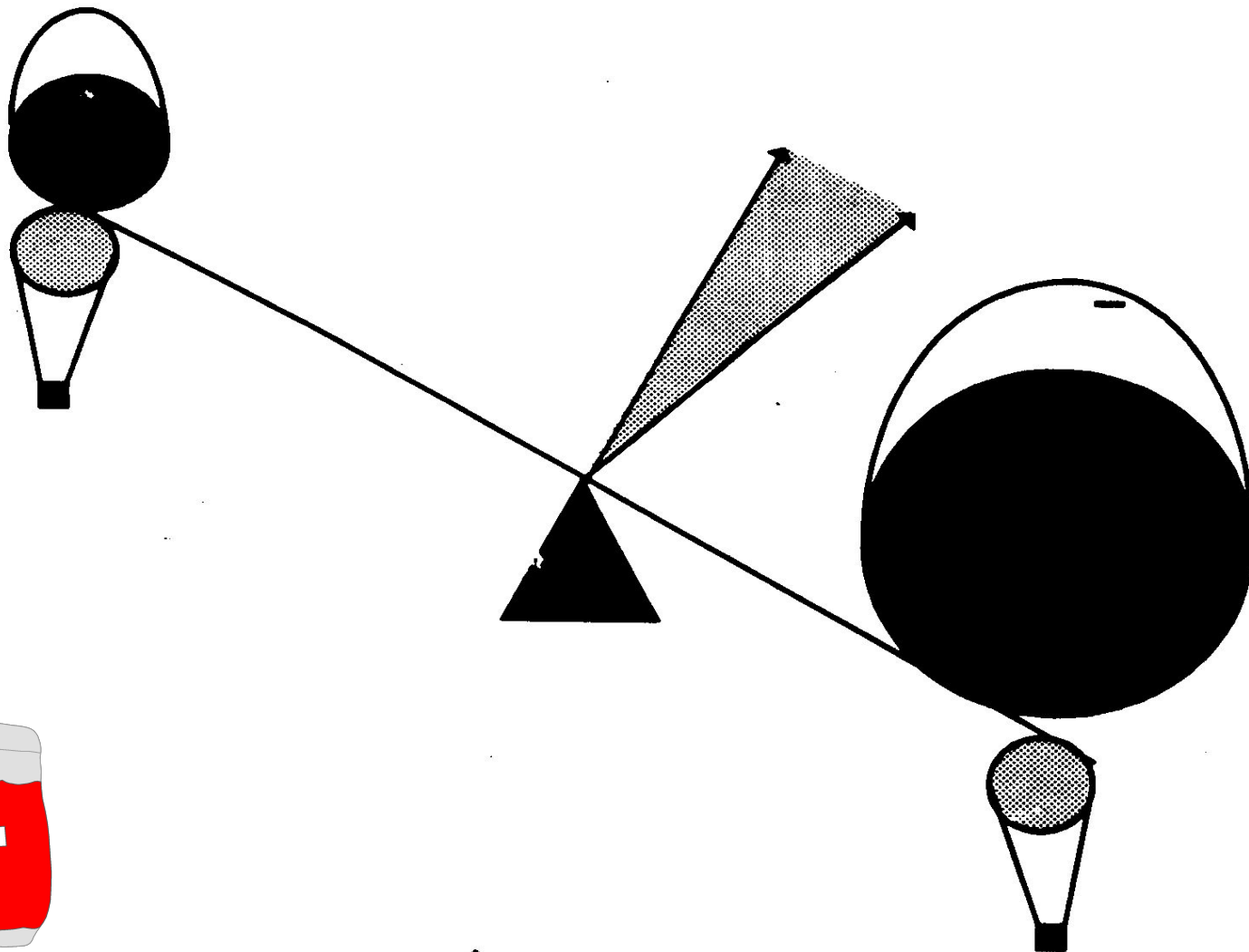


СА-7000
До 500
тестов/час
по 20
выбранным
параметрам

ДИНАМИЧЕСКОЕ РАВНОВЕСИЕ

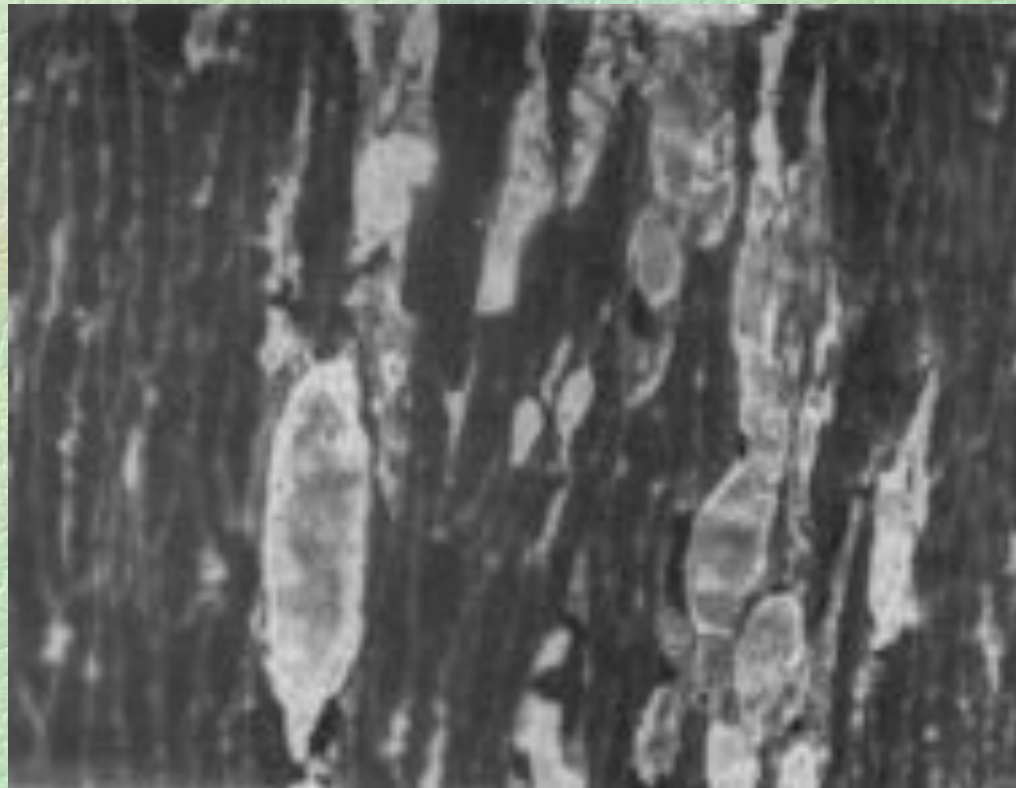


ДВС-синдром

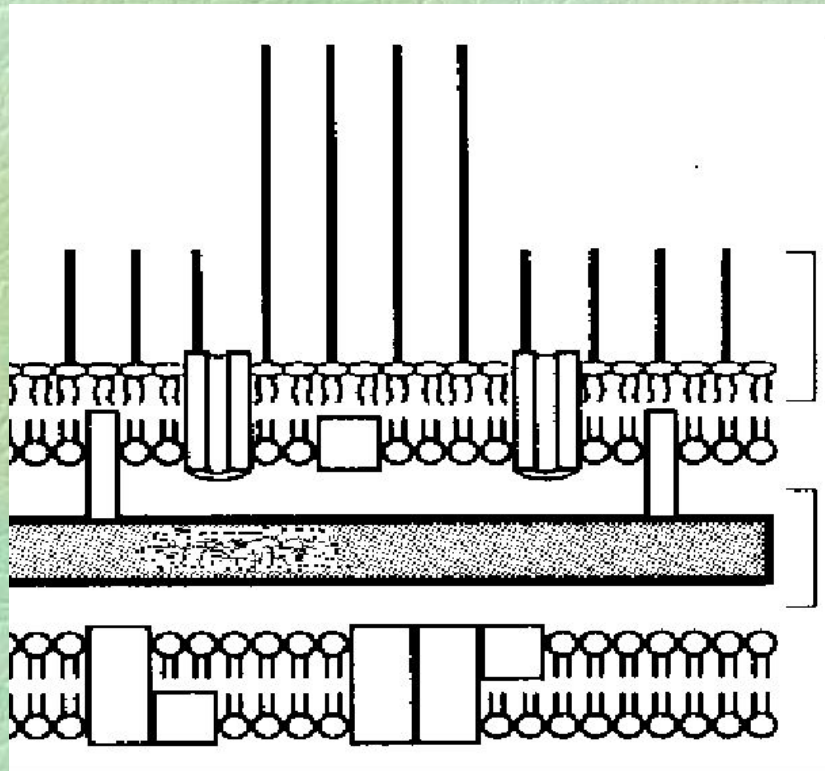


ЭНДОТЕЛИЙ ПРИ СЕПСИСЕ

Септическое повреждение эндотоксином



Патогенез ДВС-синдрома ЭНДОТОКСИН



Липополисахариды
(ЭНДОТОКСИН) клеточной
мембраны бактерий



Клеточная мембрана грам-отрицательных
бактерий

Патогенез ДВС-синдрома тромбоциты



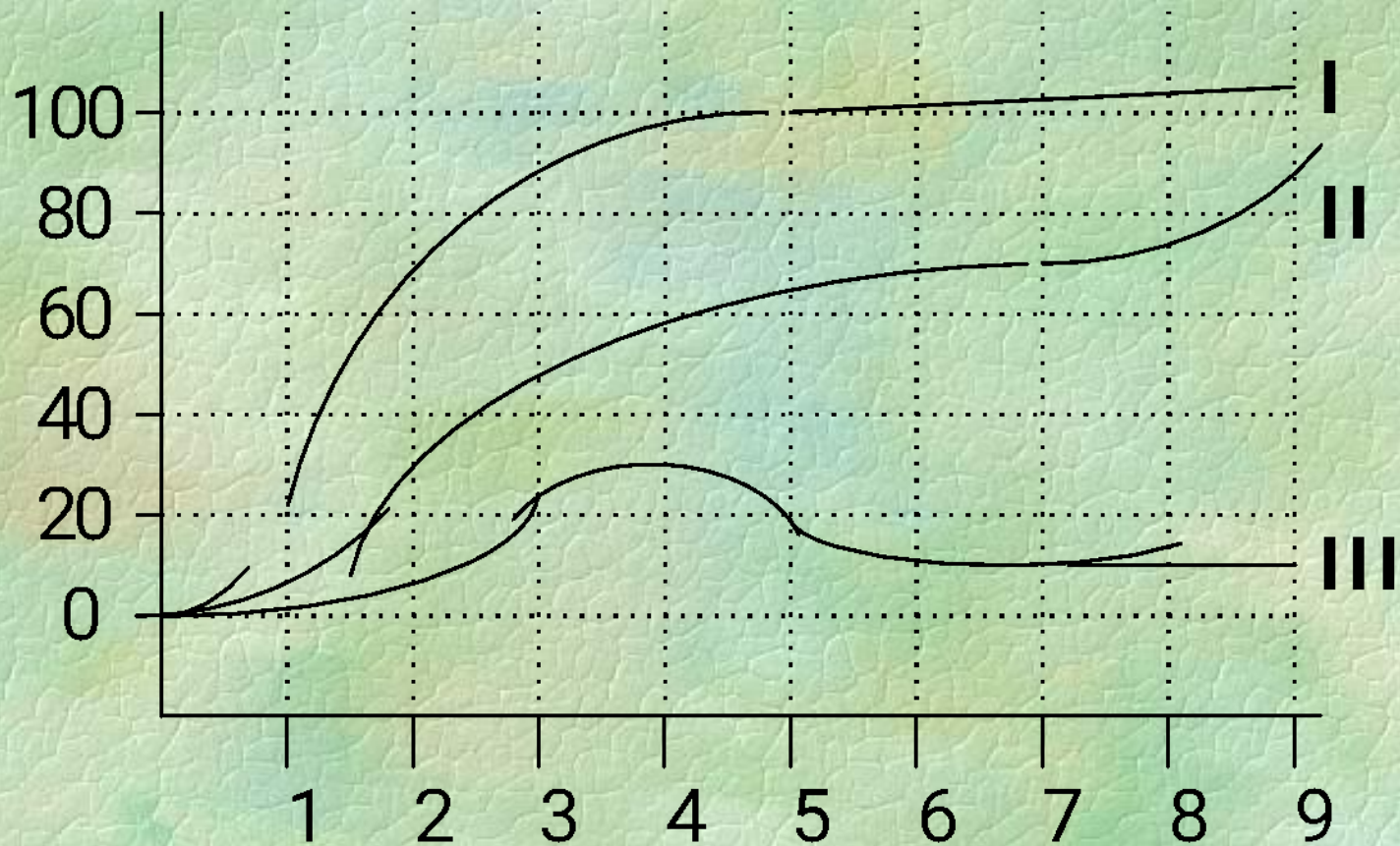
- Агрегация тромбоцитов - обязательный компонент патогенеза ДВС-синдрома
- При эндотоксиновых формах поражения, грам-отрицательном сепсисе ДВС развивается через активацию тромбоцитарно-сосудистого гемостаза
- Системные васкулиты перерастают в ДВС через тромбоцитарные нарушения

Вовлеченность тромбоцитов в патогенез ДВС-синдрома



- **Тромбоцитопения** (< 150 тыс/мкл)
 - возникает в результате потребления тромбоцитов
- **Тромбоцитопатия**
 - возникает в результате реактивного выброса в кровотоки незрелых тромбоцитов и потребления наиболее полноценного пула тромбоцитов

АДФ-индуцированная агрегация

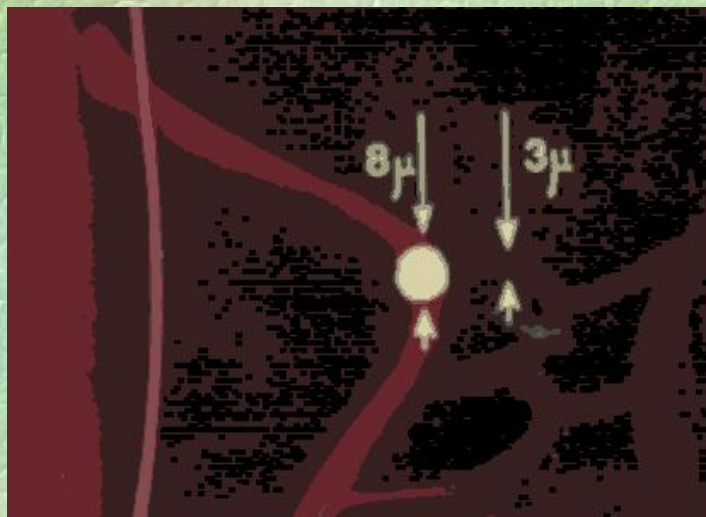


I - гиперагрегация, II - исходная, III - нарушение агрегации

МИКРОЦИРКУЛЯЦИЯ



Диаметр эритроцитов
больше диаметра
капилляров



Эритроциты в
капилляре



Эритроциты при ДВС



- Травматизация эритроцитов нитями фибрина в капиллярах
- Фрагментация с изменением формы
- Анизоцитоз (□ RDW)
- Симптомокомплекс внутрисосудистого гемолиза: □ свободного Hb, неконъюгированного билирубина, ретикулоцитоз
- Гемолиз активирует свертывание из-за освобождения АДФ из эритроцитов

Геморрагический синдром ДВС

- Геморрагический синдром обусловлен :
 - потреблением факторов (II, V, VIII и др.)
 - тромбоцитопатией потребления
 - повреждением сосудистой стенки ПДФ



ЛАБОРАТОРНЫЕ ТЕСТЫ



Количественные изменения (коагулопатия потребления и тромбоцитопатия потребления)

- в фазе потребления -по свертыванию на игле
- острое снижение в крови тромбоцитов при одновременном повышении спонтанной агрегации
- выявление в мазке обломков эритроцитов (увеличение анизоцитоза, RDW)
- потребление и истощение в крови антитромбина III
- при остром ДВС удлинение АЧТВ, АВР, ТВ, снижение ПИ
- уменьшение факторов свертывания , фибриногена (\pm)

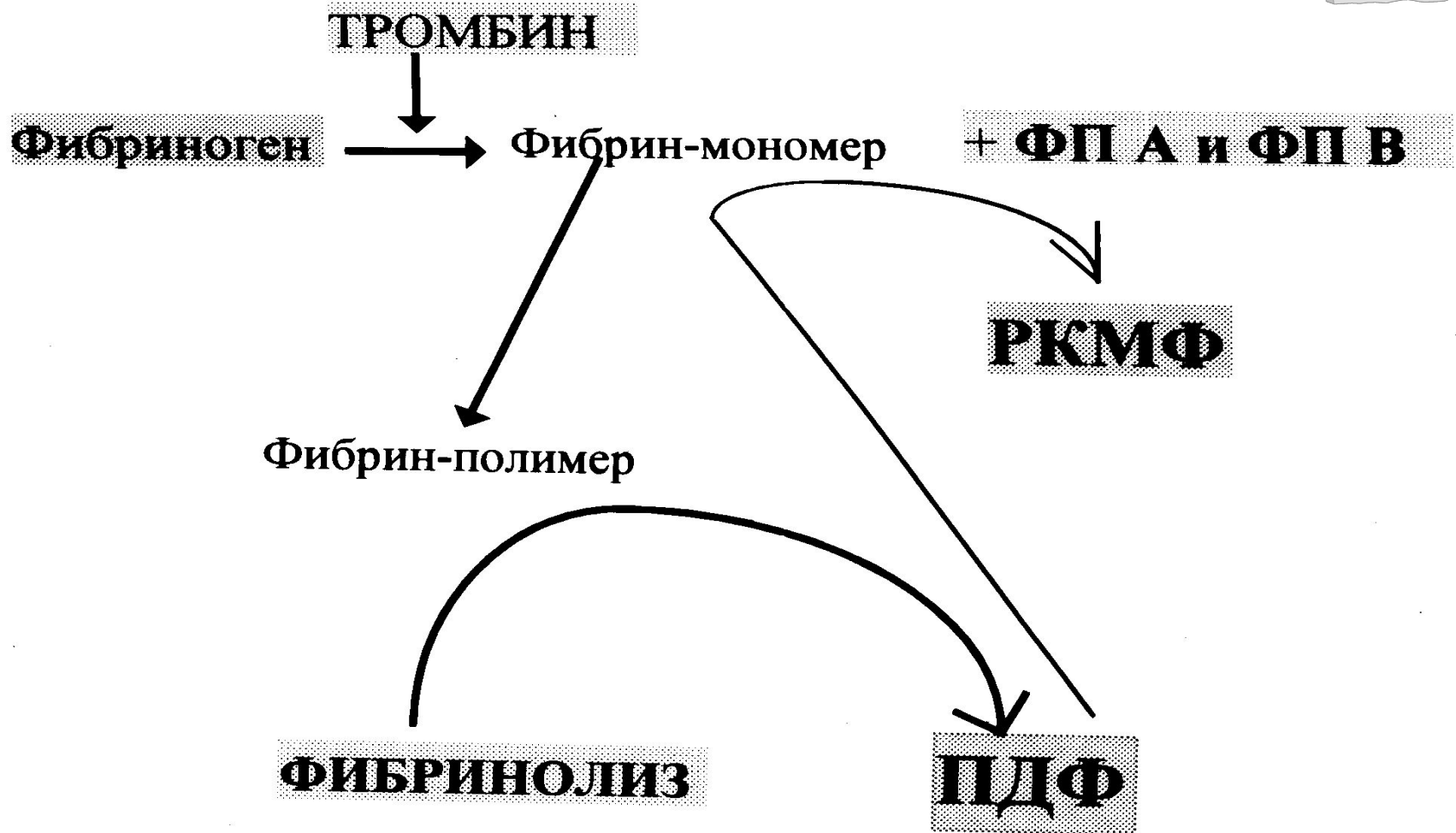
Количественные изменения (новое качество)

- положительные тесты на РКМФ (этаноловый, фенантролиновый и др.)
- определение фибринопептидов А и В (ФП А и ФП В) (ИФА-диагностика)
- выявление ПДФ
- D-димеры

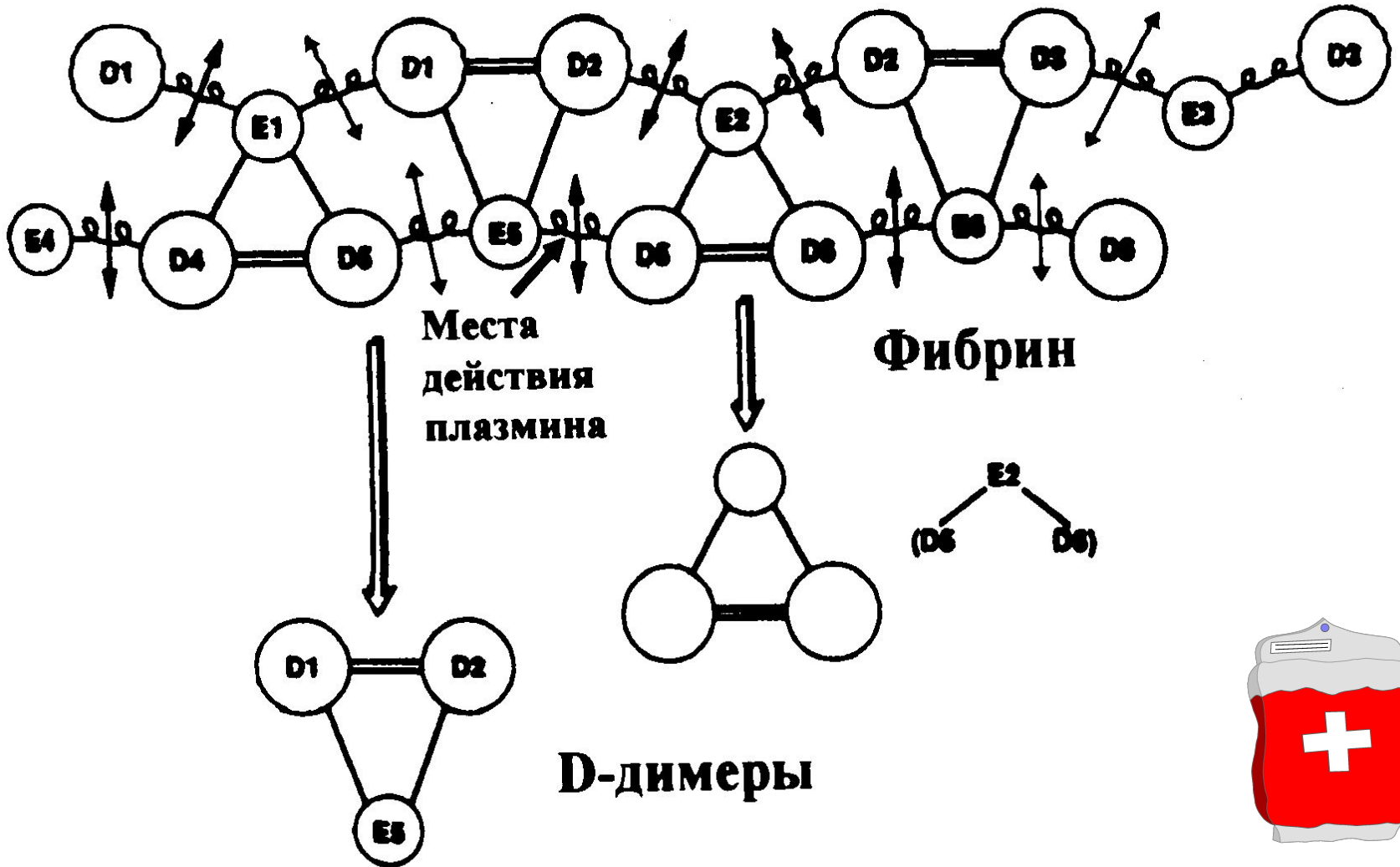
ОБРАЗОВАНИЕ И РАЗРУШЕНИЕ ФИБРИНА



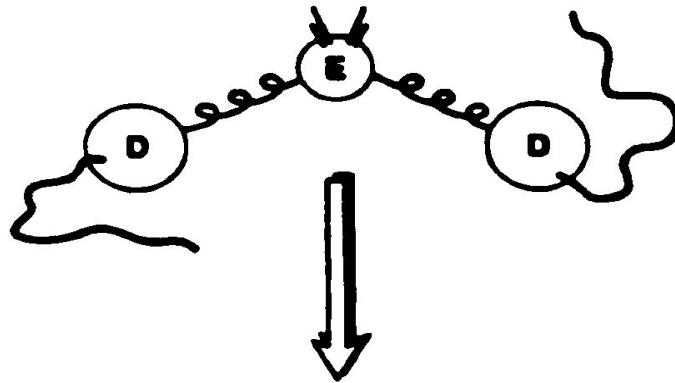
ДВС-синдром



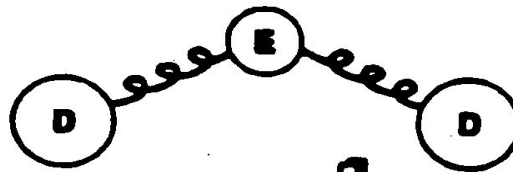
D-димеры



Деградация фибриногена

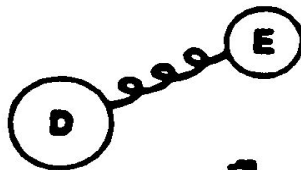


фибриноген



Фибрин-мономер

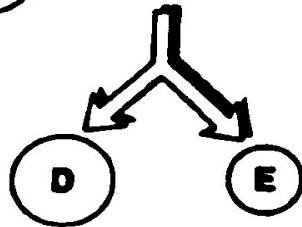
Фрагмент Y



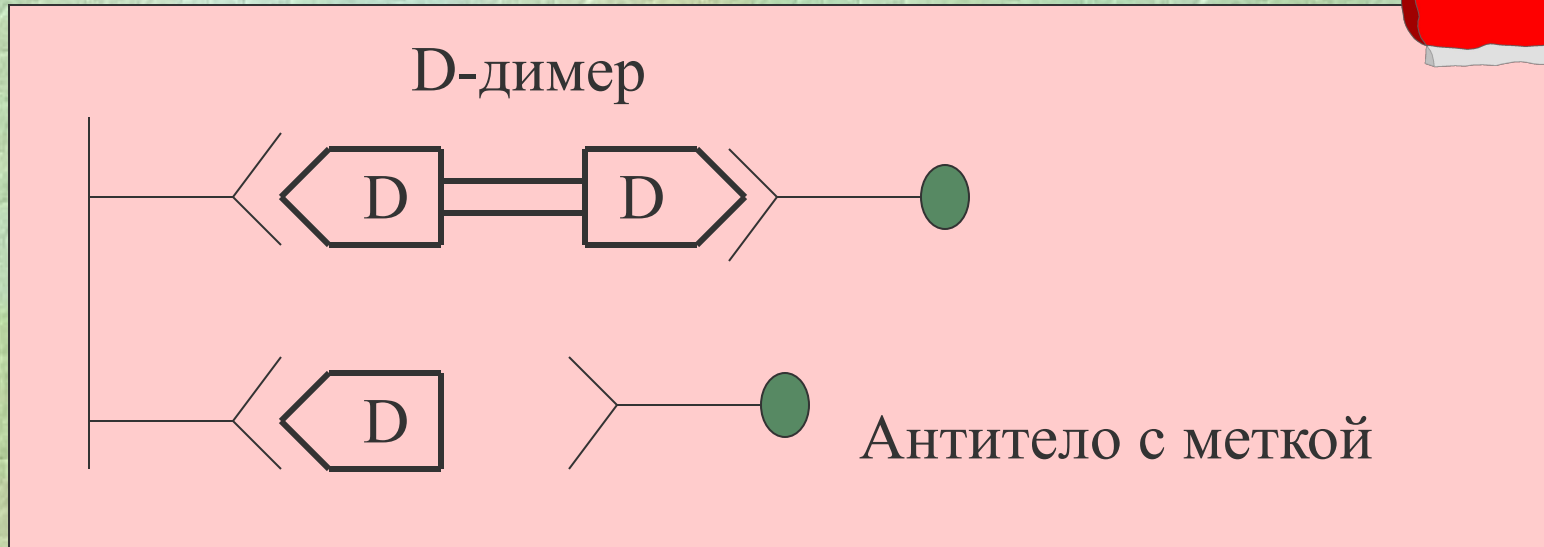
+



Фрагмент D



D-димеры



Сравнительная характеристика специфичности и чувствительности диагностики ДВС-синдрома

Тест	Больные с ДВС		Больные без ДВС	
	(КОЛ-ВО положительных рез-тов)	(КОЛ-ВО положительных рез-тов)	(КОЛ-ВО положительных рез-тов)	(КОЛ-ВО положительных рез-тов)
D-димеры		93,7 %		20 %
Антитромбин III		87,5 %		6 %
Фибринопептид		89,5 %		13 %
ПДФ А		83,7 %		40 %
Протаминсульфатный тест		26 %		13 %
Протромбиновое время		20 %		
АЧТВ		48 %		

Совокупность следующих исследований дает информацию о наличии и особенностях ДВС

- В фазе гиперкоагуляции - по свертыванию на игле, низкоконтактной тромбоэластограмме
- Выявление в мазке обломков эритроцитов
- Острое снижение тромбоцитов при одновременном повышении спонтанной агрегации
- Снижение факторов свертывания (V , VIII , II)
- Положительные тесты на РКМФ (этаноловый, тест склеивания стафилококков, ортофенантролиновый)
- Потребление антитромбина III
- Накопление ПДФ, D-димеров

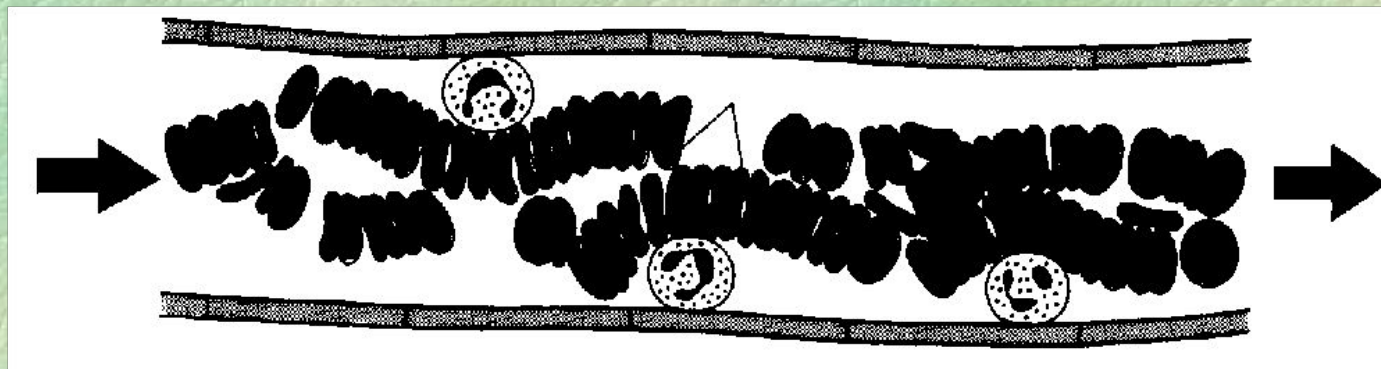


Образование монетных столбиков эритроцитов при замедлении кровотока

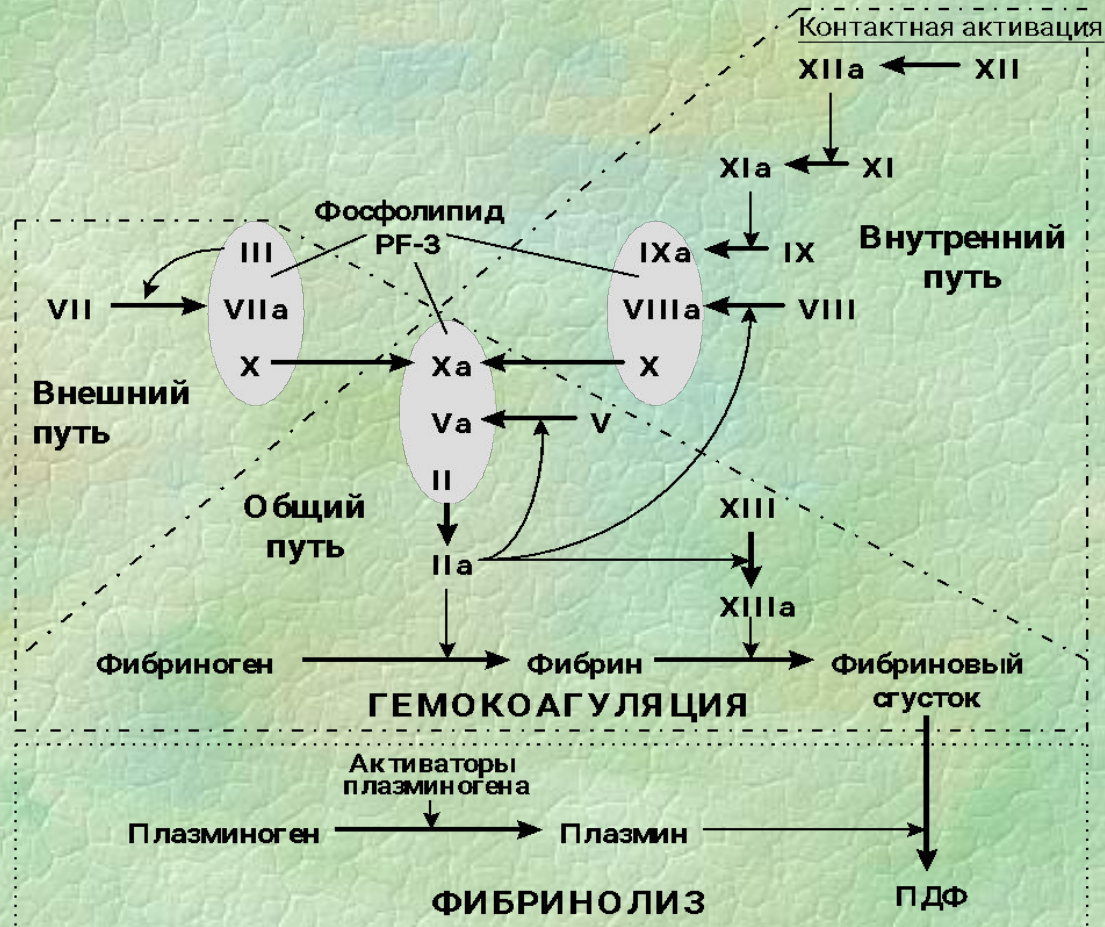
Нормальный кровоток в венулах



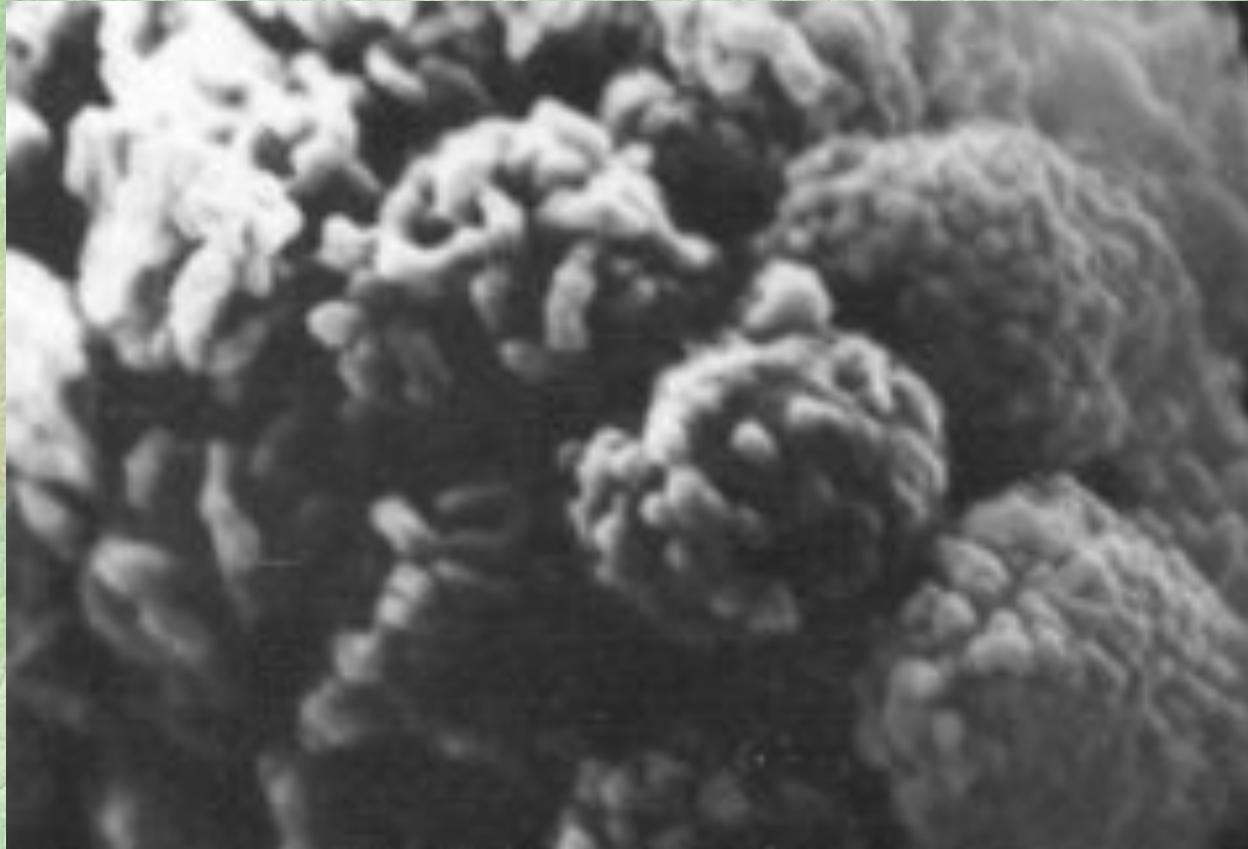
Кровоток в венулах при медленной скорости



Образование и лизис фибринового сгустка



АГРЕГАТ ЛЕЙКОЦИТАРНЫЙ НЕЙТРОФИЛЫ



Факторы свертывания крови

Таблица 1.

Фактор	Название (синонимы)	Содержание в плазме, г/л (%)	Гемостатический минимум	Период полураспада, ч
I	Фибриноген	1,7-3,5	0,5-1,0	72-120
II	Протромбин	0,07 (70-120)	г/л 40%	48-96
III	Тканевый тромбопластин (тканевый фактор)	-	-	-
IV	Кальций	0,09-0,1	#	-
V	Проакцелерин (протромбозин)	0,01 (70-120) [12-17 Ед/мл]	10-15%	15-18
VII	Проконвертин	0,05 (80-130)	5-10%	4-6
VIII: К	Антигемофильный глобулин коагулянтная часть (плазменный тромбопластический фактор А)	0,03-0,05 (70-150)	30-35%	12-18
VIII: ФВ	Фактор фон Виллебранда (ристоцетинный кофактор)	(65-145)	50%	18-30
IX	Фактор Кристмаса (антигемофильный глобулин В, тромбопластиновый компонент)	0,003-0,005 (70-120)	20-30%	15-30
X	Фактор Стюарта-Праурэр	0,01 (80-120)	10-20%	24-40
XI	Плазменный предшественник тромбопластина - РТА (антигемофильный глобулин С, фактор ингибитора)	0,5-1,85 (70-120)	10-20%	30-70
XII	Фактор Хагемана (контактный фактор)	0,03-0,04 (70-150)	<1%	50-70
XIII	Фибринстабилизирующий фактор (фибриназа, фактор Лаки-Лоранда)	0,019 (60-150)	2-3%	>72
	Прекалликреин (фактор Флетчера)	0,05 (60-150)	<1%	
	Высокомолекулярный кининоген (фактор Фицджеральда)	0,06 (70-130)	<1%	

Влияние различных факторов на результаты коагулологических исследований.

Таблица 1.

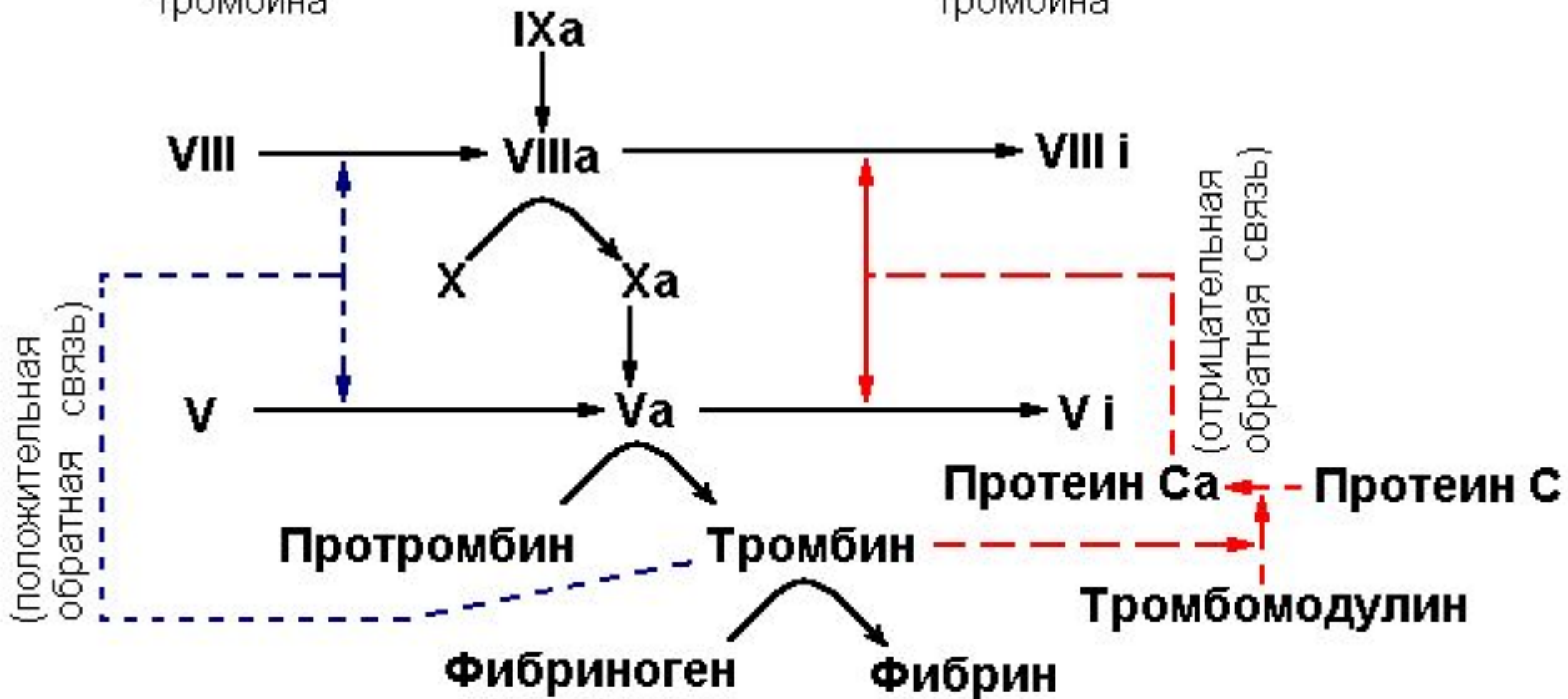
Преданалитические факторы	Влияние
Время суток	снижение содержания факторов свертывания и повышение уровня PAI-1 в ночное время
Прием пероральных контрацептивов	повышение активности большинства факторов свертывания, агрегации тромбоцитов, снижение уровня АТ-III
Длительный стаз (более 3 мин.)	увеличение фибринолитической активности, укорочение АЧТВ, ПТВ, ТВ, повышение уровня фибриногена, АТ-III
Стресс, физическая нагрузка	повышение фибринолитической активности (уровня t-РА), укорочение АЧТВ, активация фактора VIII
Положение тела	в положении стоя происходит относительное увеличение содержания факторов свертывания
Температура +18 — +24 ⁰ С в течении 8 часов	снижение активности факторов VIII, V и IX
Температура +4 ⁰ С	увеличение активности факторов VII, XI

и XII

ПРОКОАГУЛЯНТНОЕ И АНТИКОАГУЛЯНТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ТРОМБИНА

Прокоагулянтный эффект
тромбина

Антикоагулянтный эффект
тромбина



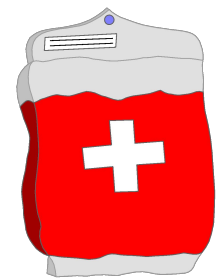
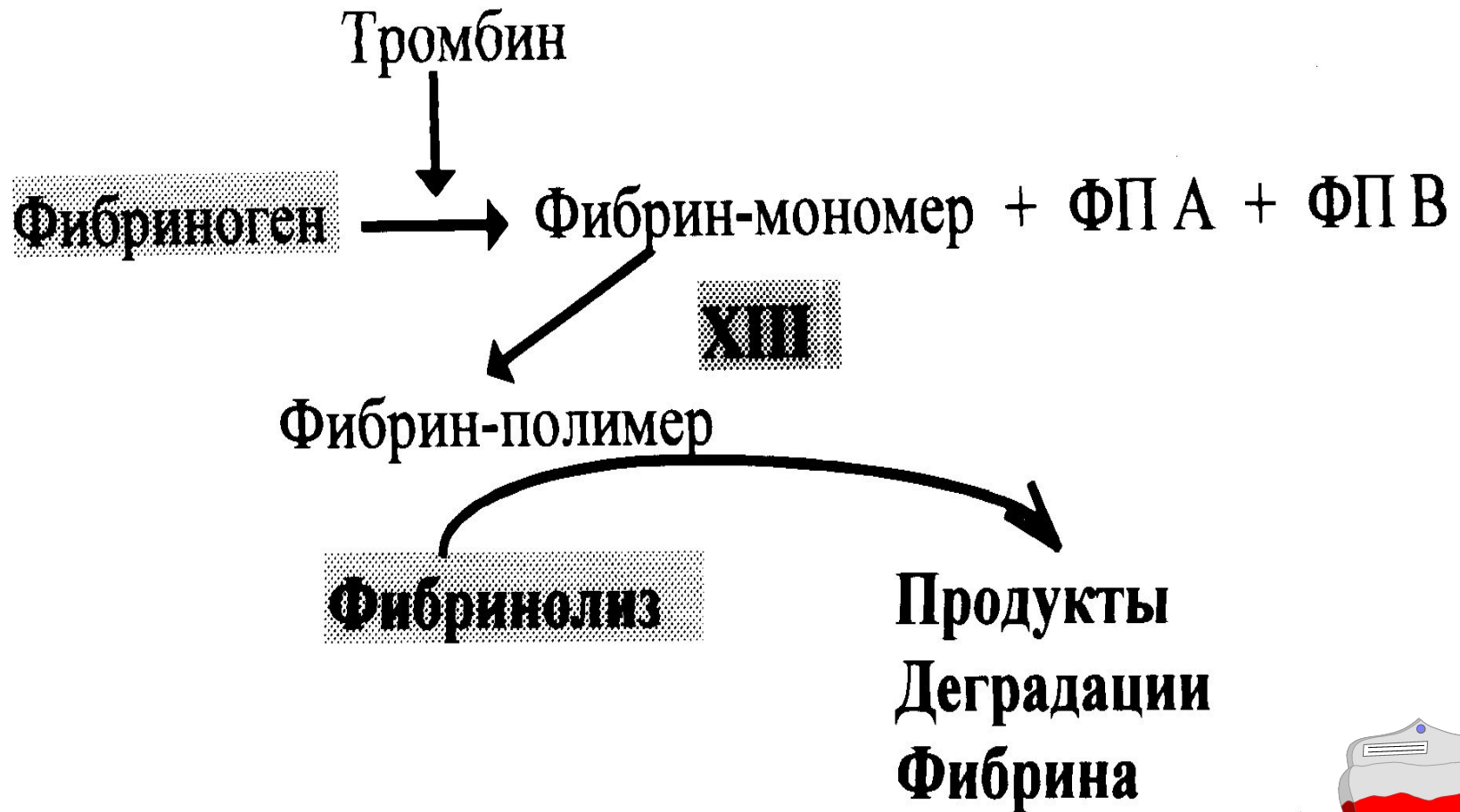
Некроз кишечника и геморрагии при шоке



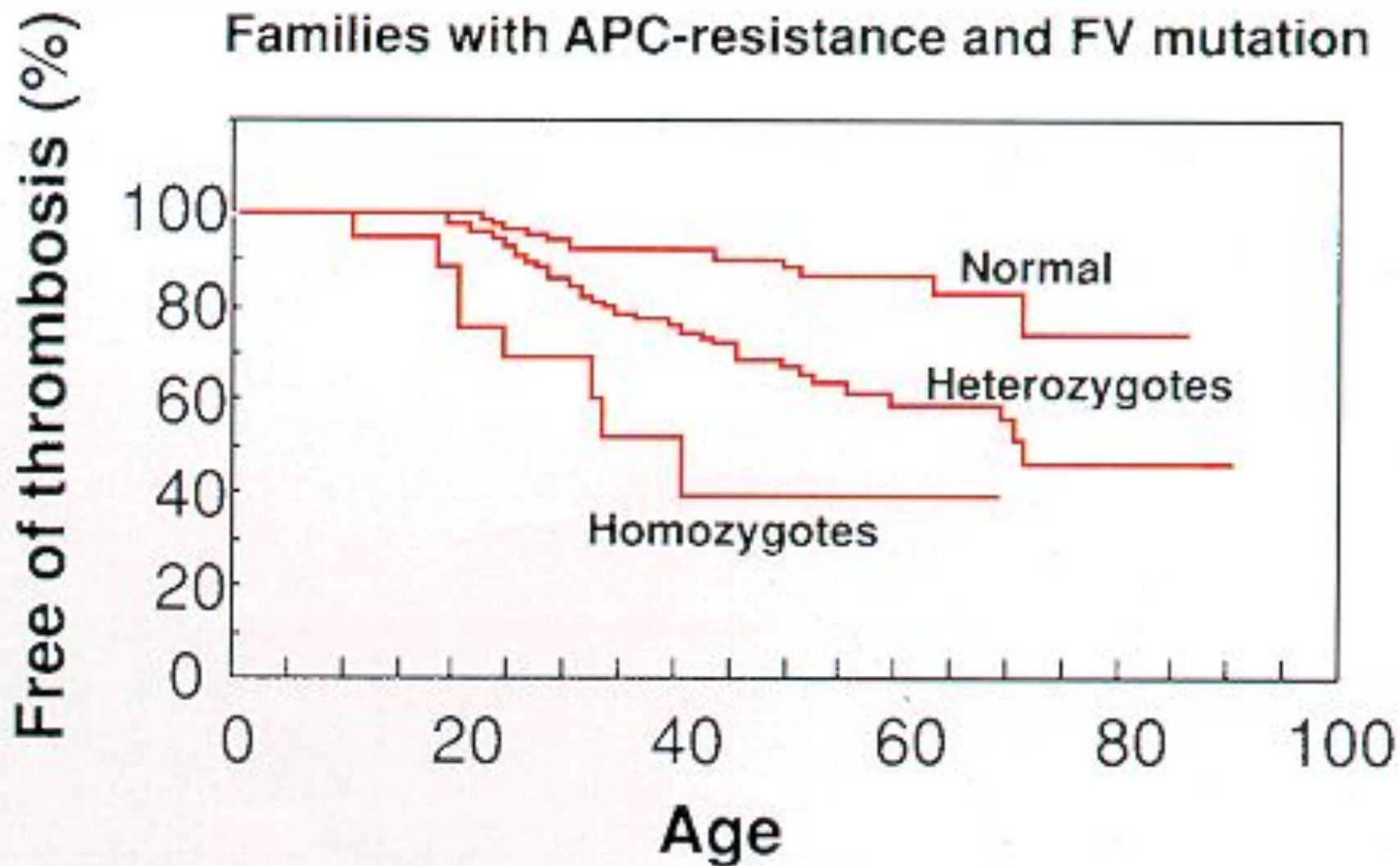
Отток крови от органов брюшной полости при шоке в результате централизации кровообращения может привести к необратимым изменениям, полиорганной недостаточности

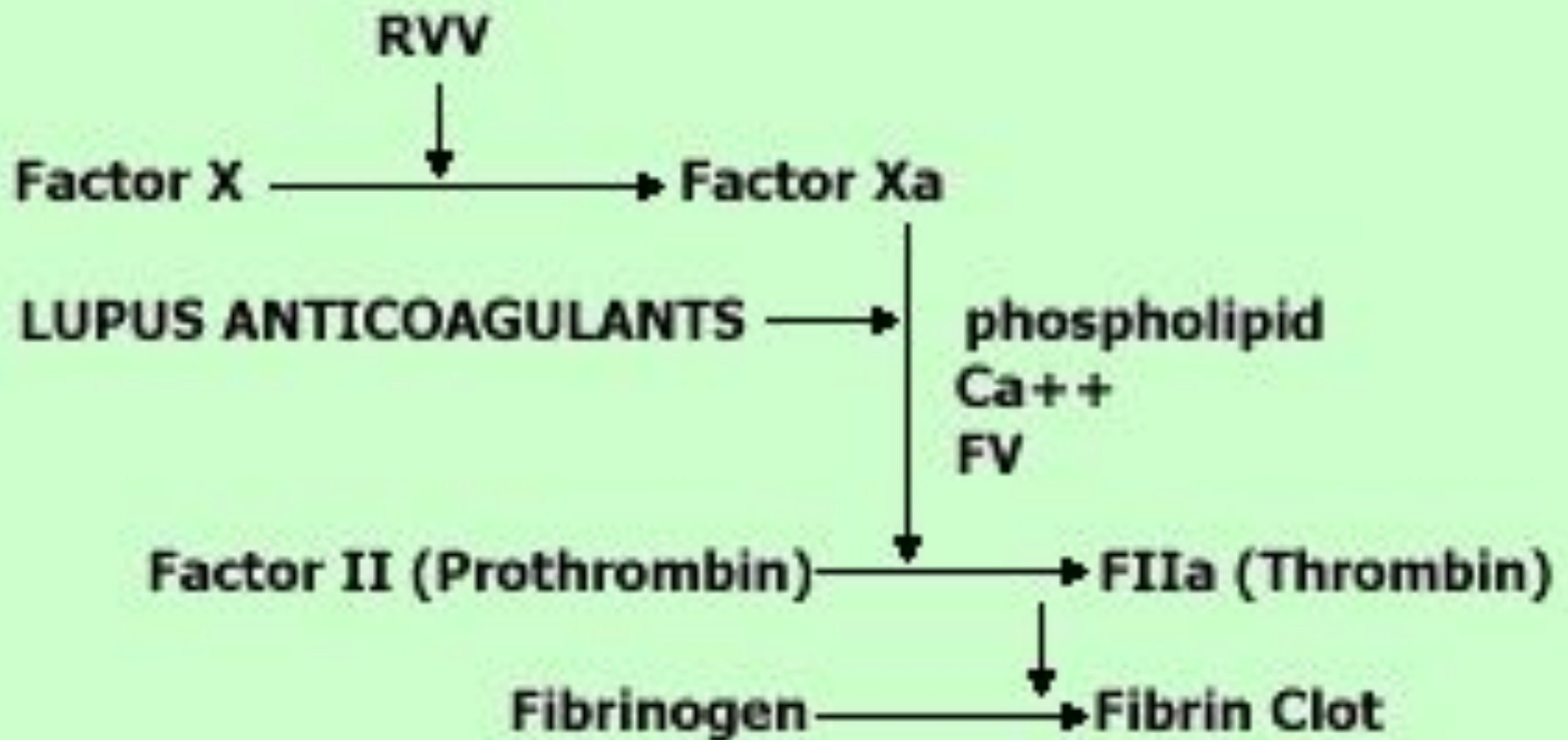


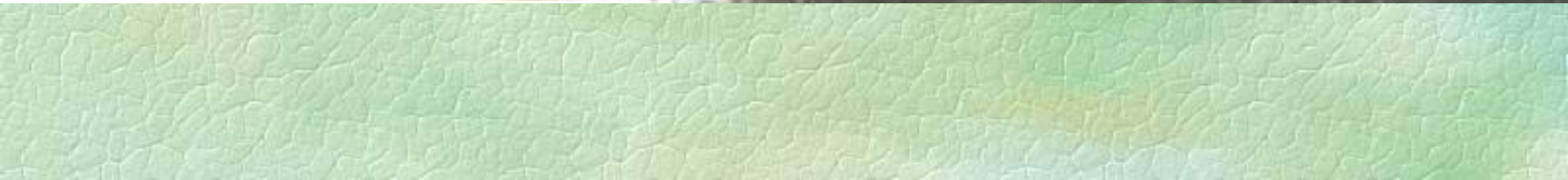
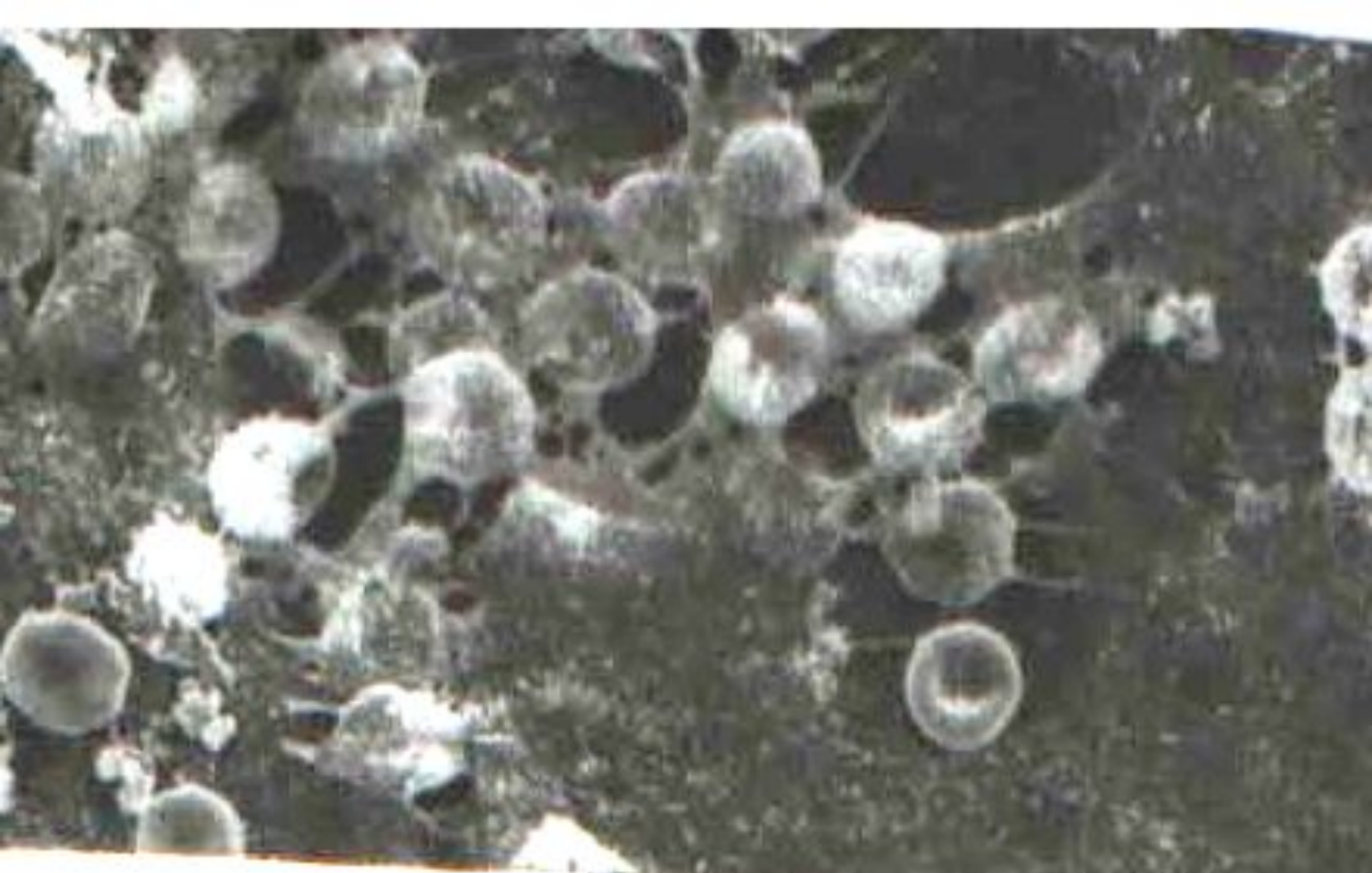
норма

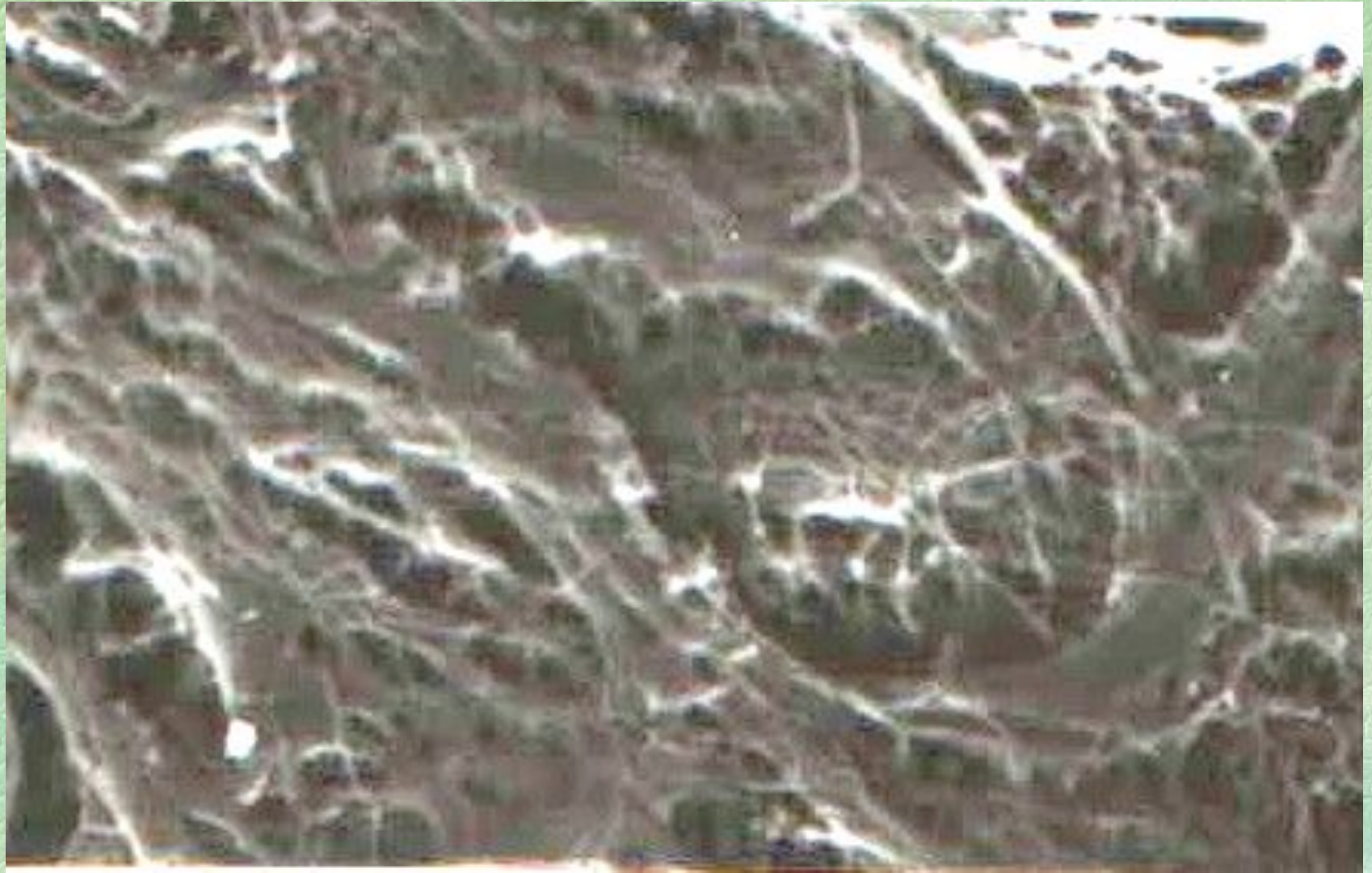


Families with APC-resistance and FV mutation











Адгезированные тромбоциты на сосудистой стенке

