

Лекция для слушателей курса ПК
«Лабораторные основы клинического диагноза»

Время – 90 минут

Основы физиологии гемостаза

Старший преподаватель:
Скребло Е.И.

Гемостаз

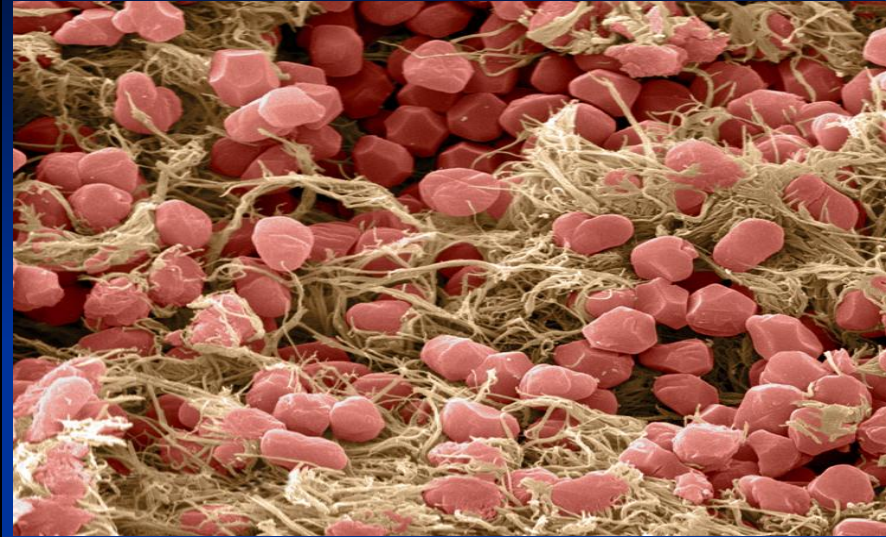
- это функция организма, обеспечивающая, с одной стороны, сохранение крови в кровеносном русле в жидком агрегатном состоянии, а с другой - остановку кровотечения и предотвращение кровопотери при повреждении кровеносных сосудов

Функционирование системы гемостаза определяется состоянием трех тесно взаимодействующих между собой компонентов:

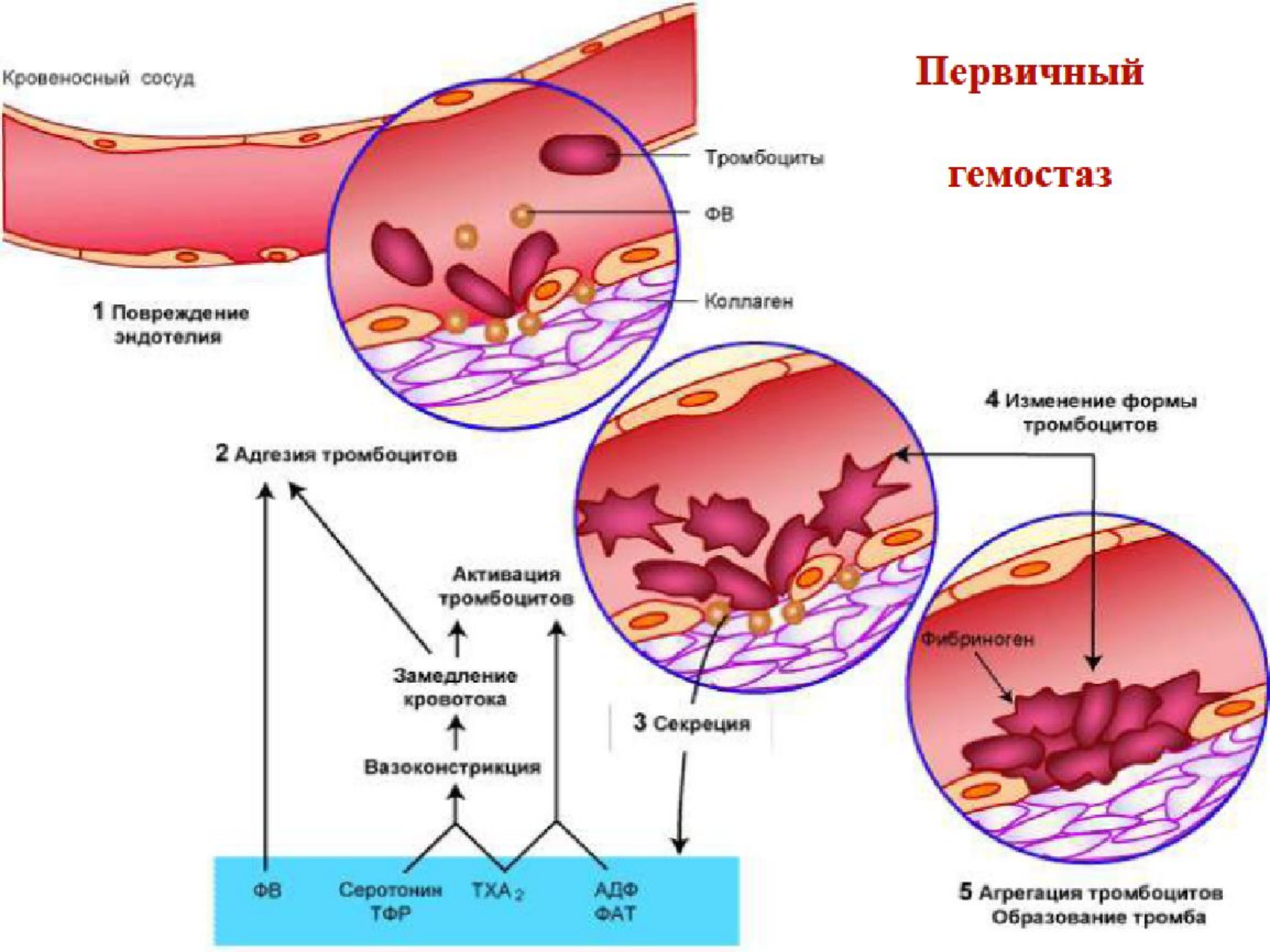
- стенками кровеносных сосудов, в первую очередь эндотелием и субэндотелиальными структурами;
- клеточными элементами крови, в первую очередь тромбоцитами;
- плазменными протеолитическими системами - свертывающей, плазминовой (фибринолитической), калликреин-кининовой и комплемента.

Хронология гемостаза

- Спазм сосудов: в пределах нескольких секунд;
- Формирование тромбоцитарного сгустка: от 3 до 5 минут;
- Формирование фибринового сгустка: от 10 до 30 минут;
- Процессы восстановления, с вовлечением системы фибринолиза: от дней до недель

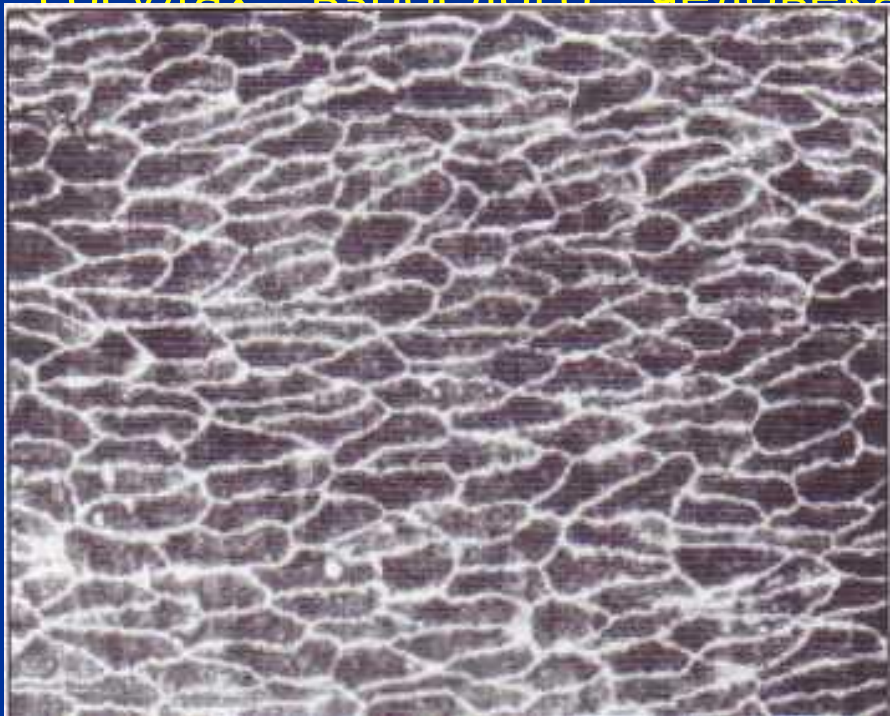


Первичный гемостаз



Сосудистая стенка имеет активную поверхность, с внутренней стороны выстланную эндотелиальными клетками. Целостность эндотелиального покрова является основой нормального функционирования кровеносных сосудов.

Площадь поверхности эндотелиального покрова в сосудах взрослого человека сопоставима с площадью



**Эндотелиальный покров
сосудов.**

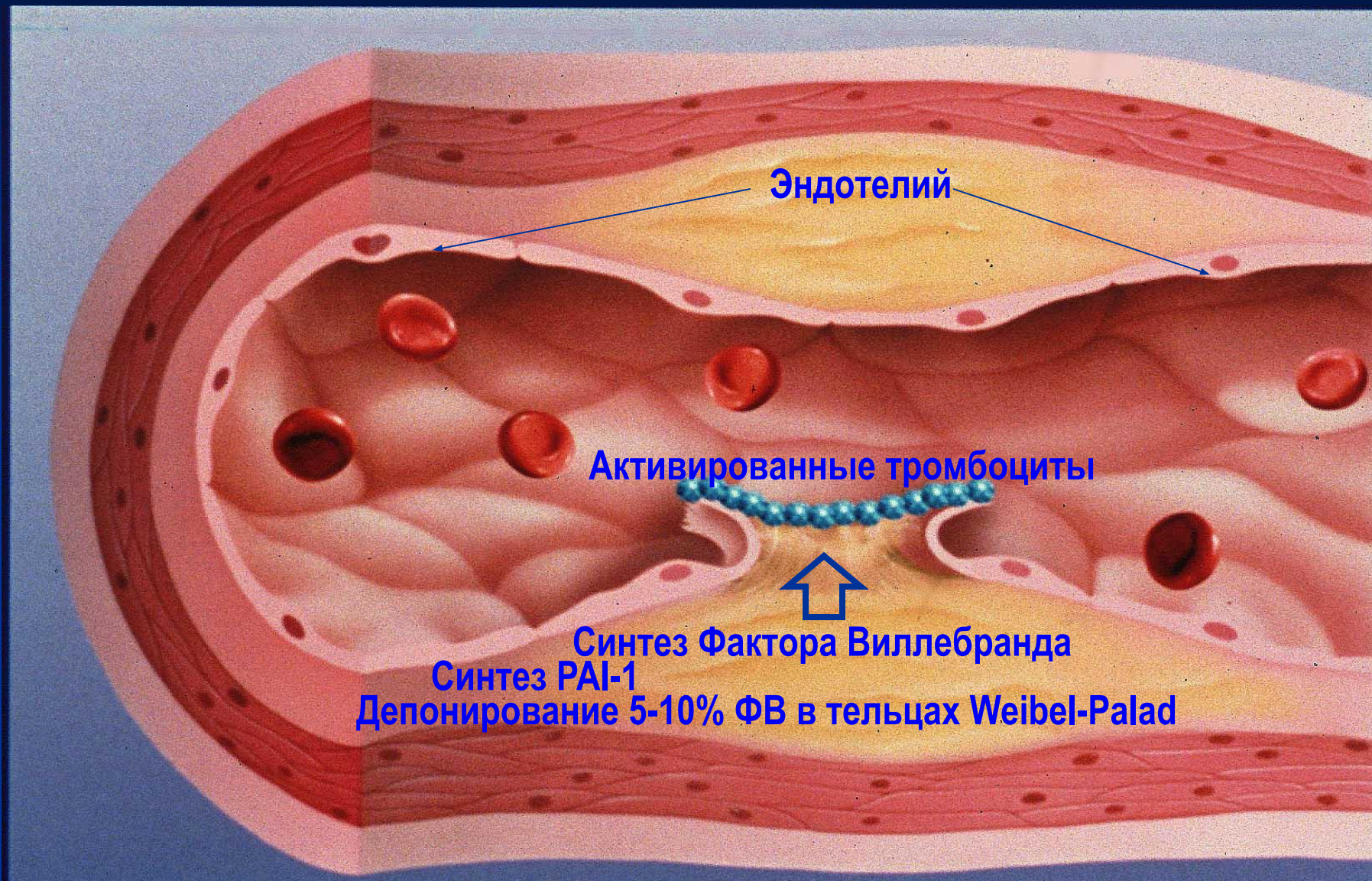
Гладкая поверхность покрыта одним слоем эндотелиальных клеток.

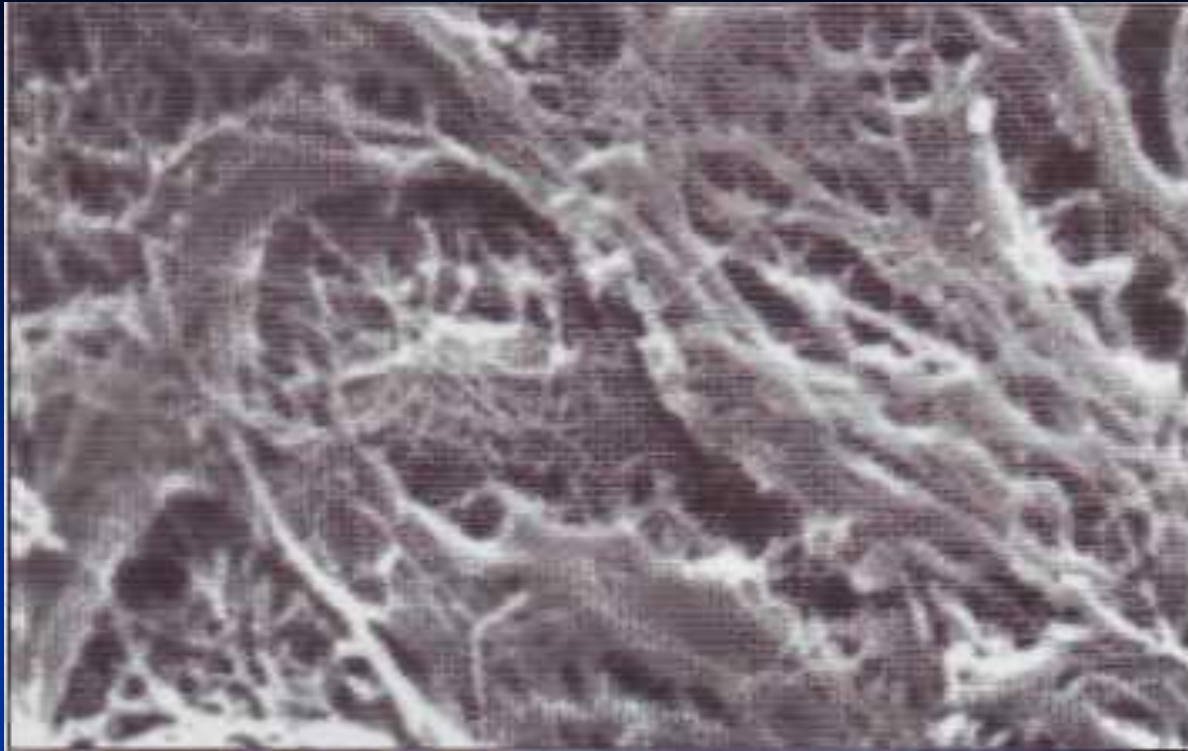
Целостность эндотелиального покрова - важнейшее условие сохранения жидкого

Антикоагулянтные свойства эндотелия обеспечиваются несколькими механизмами.

- Интактный эндотелий не обладает прокоагулянтной активностью.
- Эндотелий пассивно предотвращает контакт крови с субэндотелиальными структурами, обладающими выраженными прокоагулянтными свойствами.
- Интактный эндотелий синтезирует, выделяет в кровь или представляет на своей поверхности вещества, препятствующие коагуляции, адгезии, агрегации и спазму сосудов (простациклин, тромбомодулин, тканевого активатора плазминогена)

Прокоагулянтные функции эндотелия





Субэндотелий сосудистой стенки организован полимерными белками: коллагеном, эластином и другими.

Обладает выраженным тромбогенным эффектом, стимулируя процессы свертывания крови.

Коллаген субэндотелия является субстратом для адгезии тромбоцитов. Связь коллагена с рецепторами тромбоцитов вызывает активацию последних.

Коллагены - наиболее распространенные белки в организме. Они составляют 25% от общего количества белка. Коллагены образуют нерастворимые нити (фибриллы), которые входят в состав межклеточного матрикса и соединительных тканей.

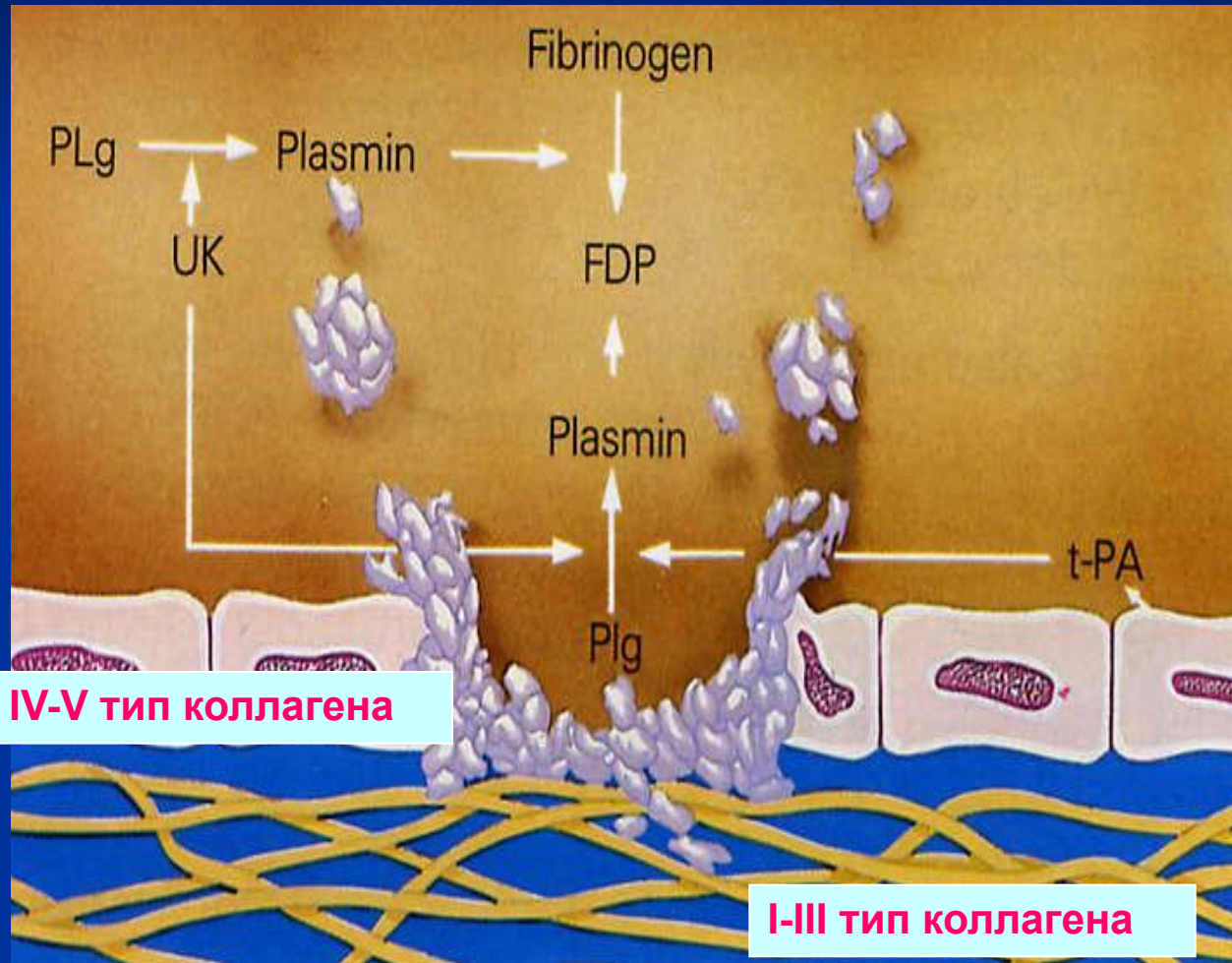
Прокоагулянтные свойства клеток субэндотелия (макрофагов, фибробластов, лейкоцитов и гладких мышечных клеток) обусловлены наличием на их поверхности тканевого фактора.

Тканевой фактор (ТФ) - трансмембранный белок.

ТФ в норме нет на поверхности циркулирующих лейкоцитов или эритроцитов.

Свойства субэндотелия

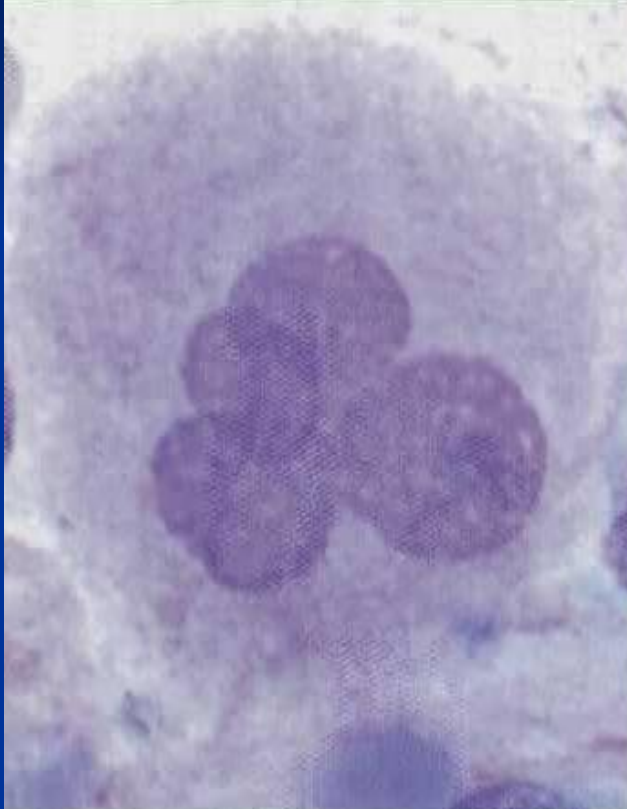
- Активирует тромбоциты;
- Стимулирует их адгезию;
- Активирует систему гемостаза;



ТРОМБОЦИТАРНЫЙ КОМПОНЕНТ СОСУДИСТО- ТРОМБОЦИТАРНОГО ЗВЕНА ГЕМОСТАЗА

Тромбоцитопоз

Мегакариоцит



Диаметр 30-40 мкм.

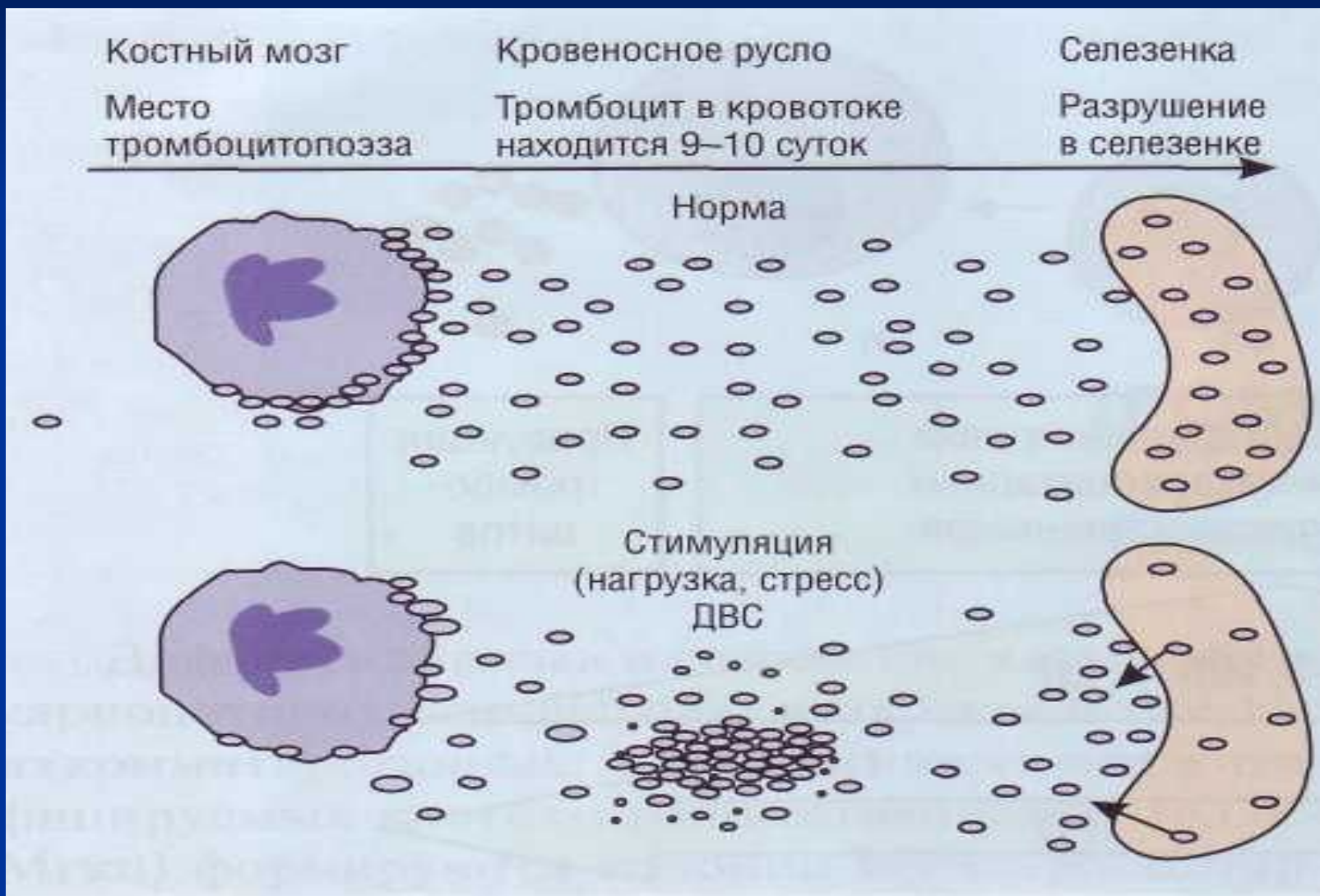
Ядро темно-фиолетового
цвета, лопастное, с
вдавлиннями,
фрагментированное.

Хроматин распределен
неравномерно.

||

Жизненный цикл тромбоцитов

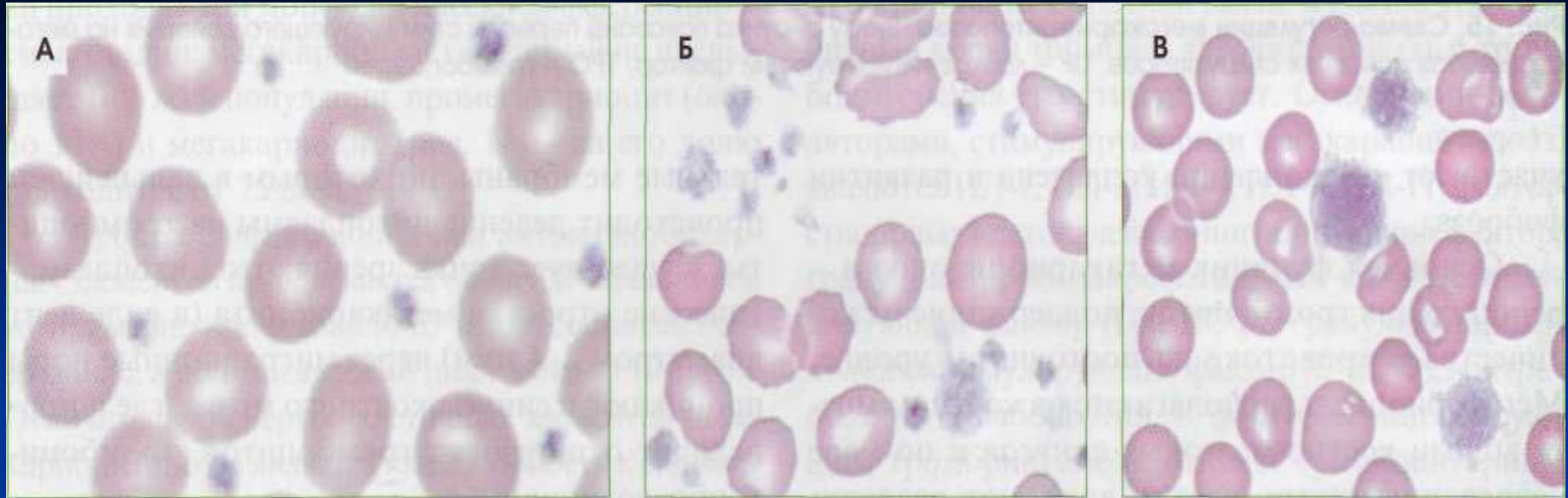
Примерно 2/3 периферического пула находится постоянно в системе циркуляции, 1/3 - в селезенке.



Жизненный цикл тромбоцитов

- При спленомегалии резервный пул тромбоцитов возрастает, что может приводить к перераспределительной тромбоцитопении.
- При стимуляции адренорецепторов (физическая нагрузка, стресс)
- выброс тромбоцитов в циркуляцию приводит к кратковременному тромбоцитозу.
- После спленэктомии также наблюдается тромбоцитоз.
- Опустошение резервного пула тромбоцитов в селезенке происходит при ДВС-синдроме,

Тромбоциты в периферической крови:

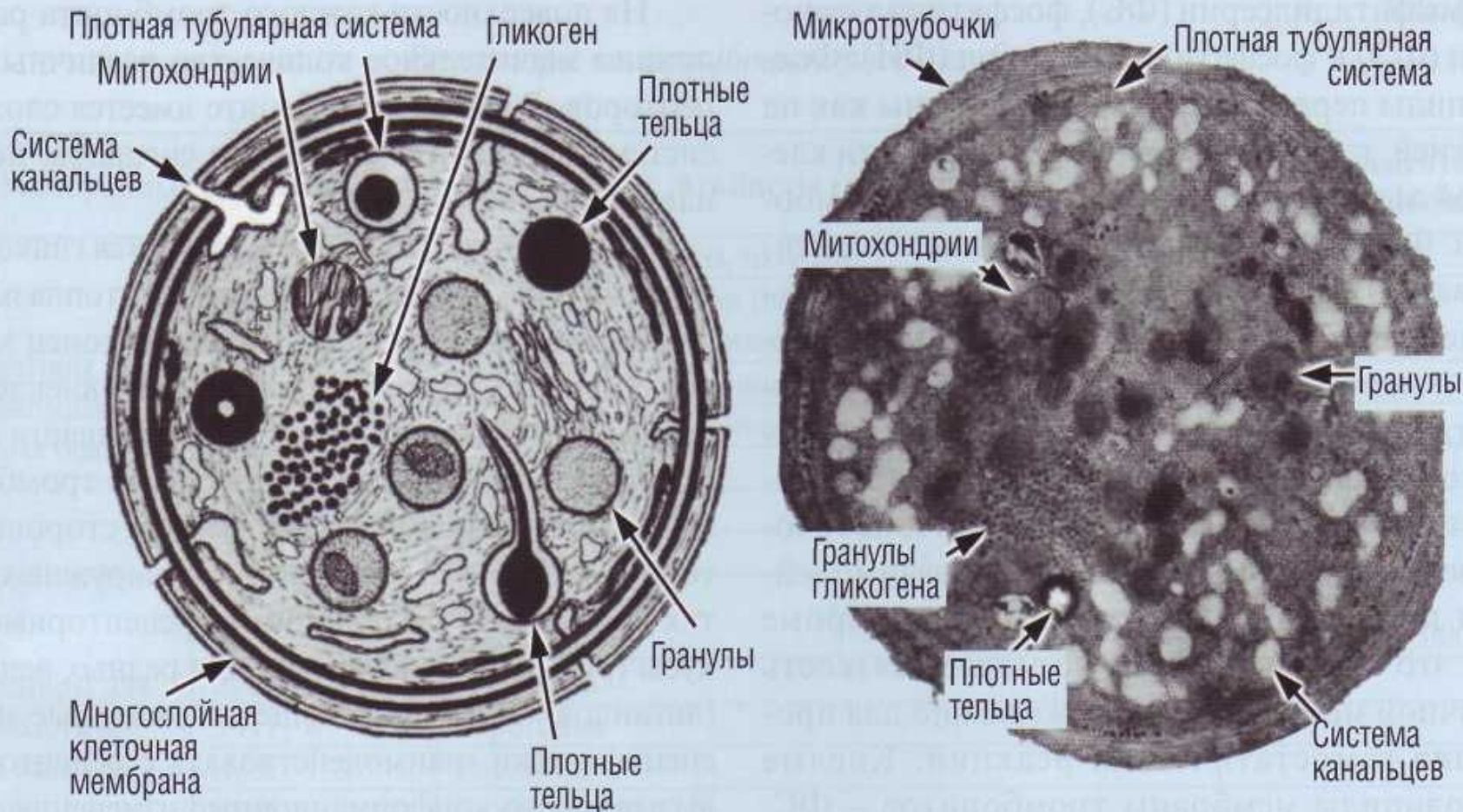


А - нормальные тромбоциты.

Б - анизоцитоз тромбоцитов при хроническом моноцитарном лейкозе (нарушение дифференцировки на уровне полипотентных коммитированных предшественников мегакариоцитопоэза).

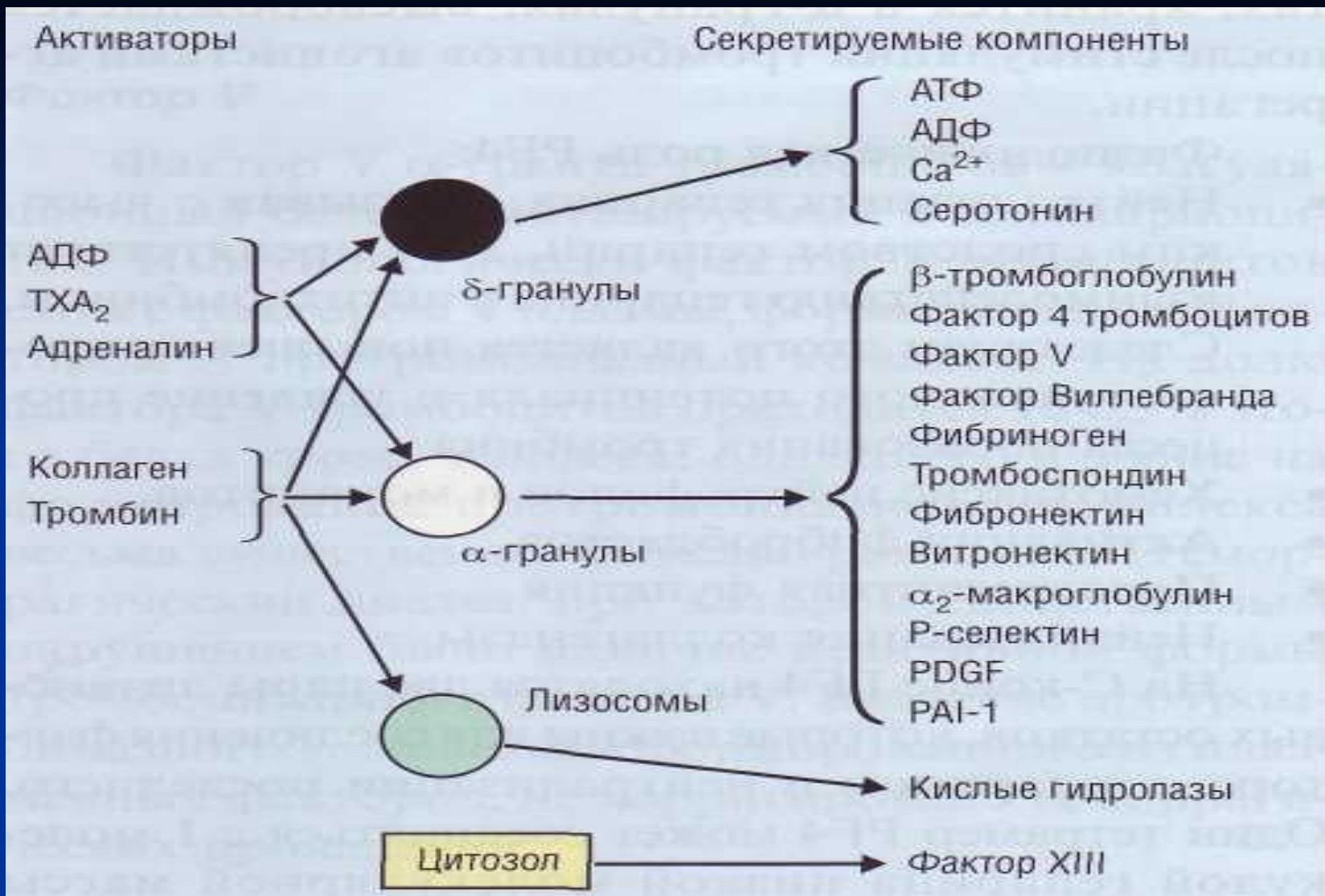
В - гигантские тромбоциты (макротромбоциты) при аутоиммунной тромбоцитопении.

Тромбоцит (рисунок и микрофотография).



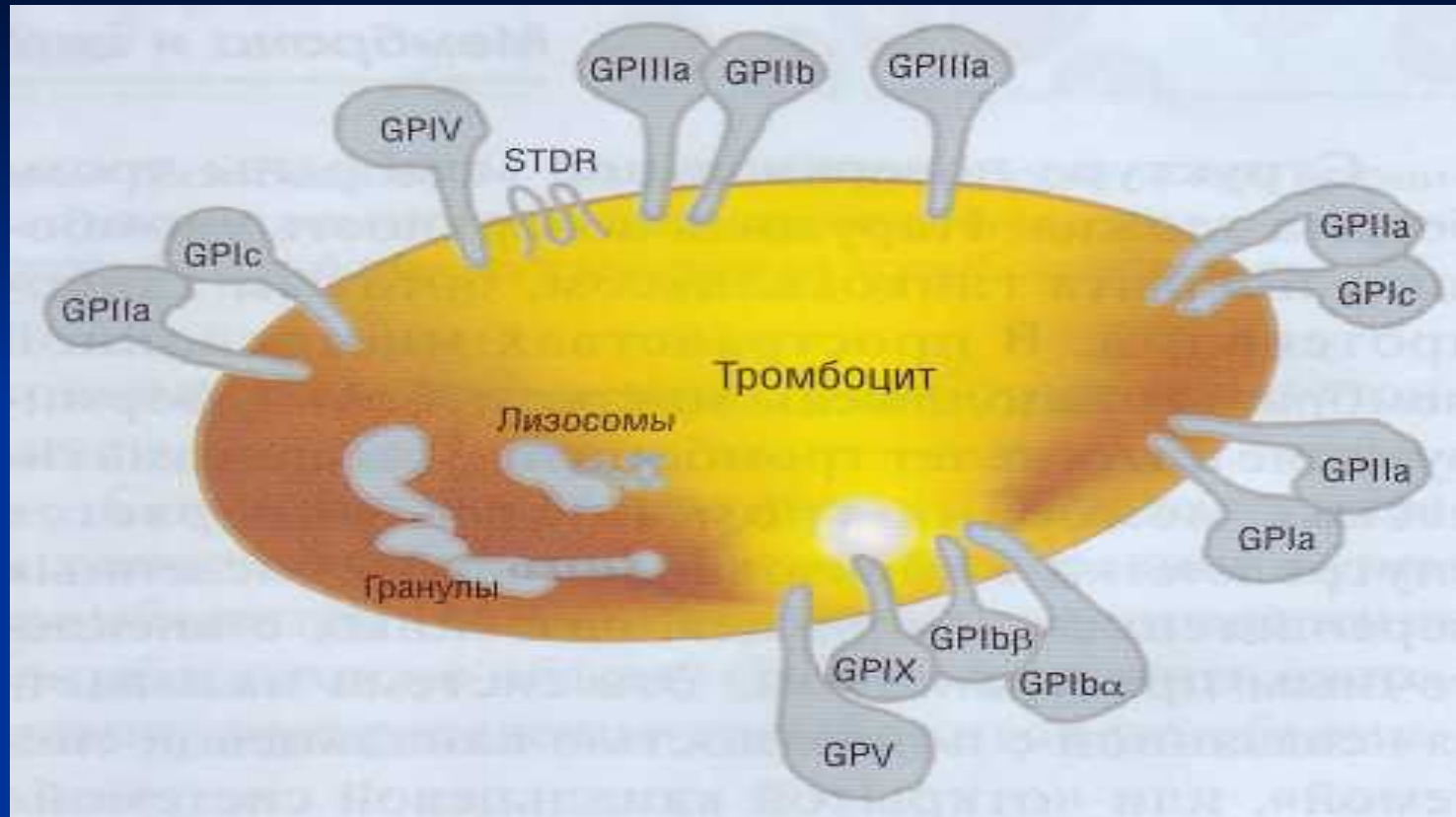
Интактные тромбоциты имеют форму диска.

В цитоплазме расположены митохондрии, пероксисомы (содержат каталазу), включения гликогена, лизосомы и гранулы, содержащие пуллы хранения различных веществ.



Секретируемые факторы тромбоцитов присутствуют в тромбоцитах в 3 видах гранул хранения. Разные стимуляторы приводят к освобождению содержимого гранул тромбоцитов

Поверхностные гликопротеиновые (GP) рецепторы тромбоцита.



На наружных частях молекул гликопротеинов располагаются рецепторные локусы. Молекула рецепторного гликопротеина «пронизывает» мембрану.

После соединения рецепторных локусов с лигандами создается сигнал активации, передающийся к внутренним частям

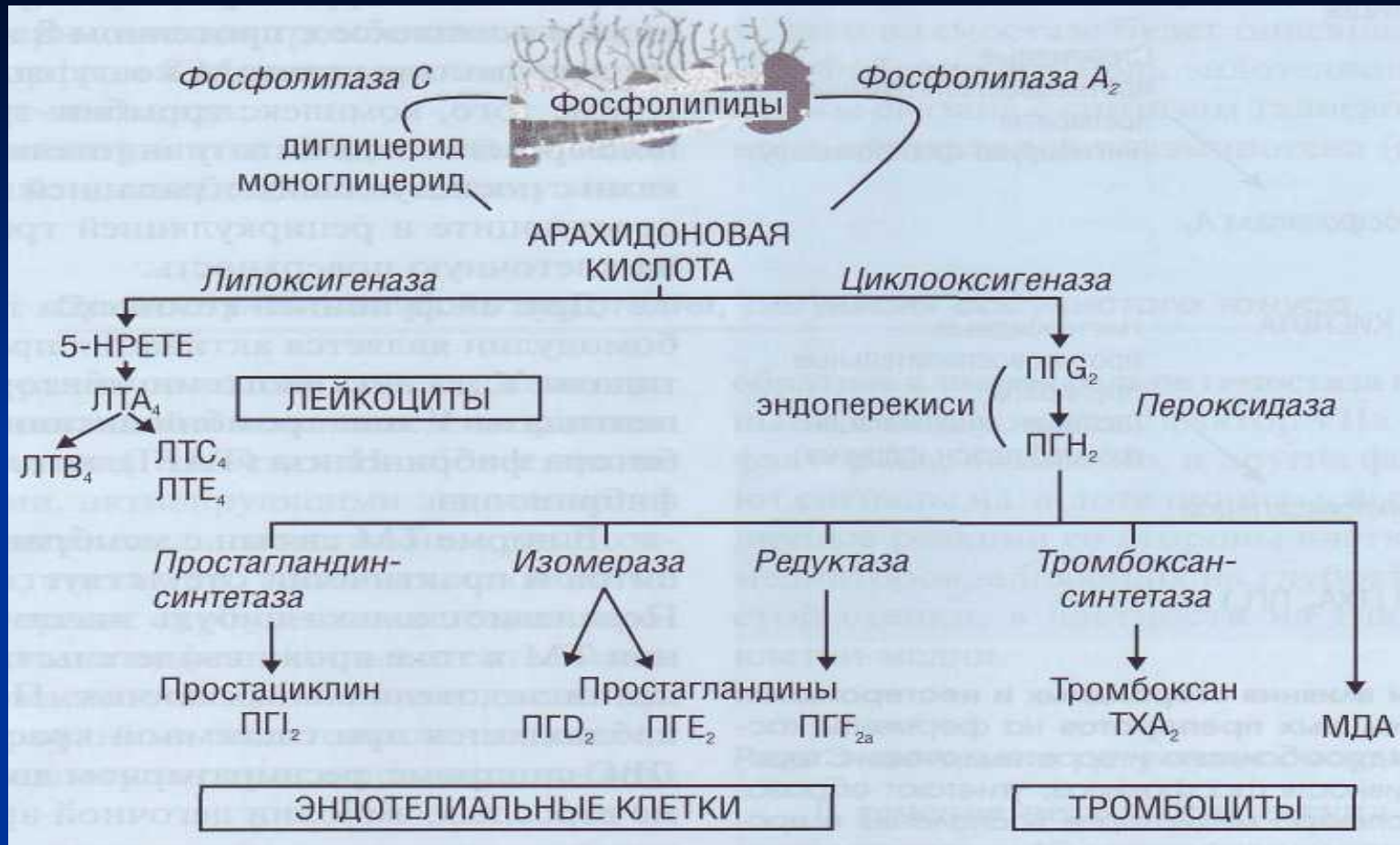
Основные функции тромбоцитов:

1. Формирование первичного тромбоцитарного тромба в зоне повреждения сосуда за счет адгезии и последующей агрегации;
2. Катализ гуморальных реакций гемостаза за счет:
 - А) предоставления фосфолипидной поверхности (*фактор 3 тромбоцитов или тромбоцитарный тромбопластин*), необходимой для взаимодействия большинства плазменных белков гемостаза;
 - Б) выброса прокоагулянтов из пулов хранения;
3. Ретракция сгустка крови;
4. Стимуляция локальной вазоконстрикции, репарации тканей, регулирование местной воспалительной реакции за счет высвобождения соответствующих

Субстанции, стимулирующие тромбоциты

В организме			В эксперименте
здорового человека		больного	
в крови в зоне повреждения сосуда	в поврежденной стенке сосуда	в крови	
<ul style="list-style-type: none"> • АДФ • Эпинефрин • Серотонин • Вазопрессин • Тромбин • Плазмин • PAF • TXA_2 • PGG_2, PGH_2 • Фактор Виллебранда 	<ul style="list-style-type: none"> • Коллаген • Микрофибриллы вокруг эластина • Фактор Виллебранда 	<ul style="list-style-type: none"> • Протеолитические ферменты • Антитромбоцитарные антитела • Комплекс антиген-антитело • Бактерии • Вирусы • Опухолевые клетки 	<ul style="list-style-type: none"> • Арахидоновая кислота • Ионофоры A23187 и иономицин • Форболовые эфиры • Негидролизуемые аналоги GTP • Синтетические аналоги TXA_2 • Ристомицин • Гемагглютинины

Каскад метаболитов, образующихся из арахидоновой кислоты



В эндотелиальных клетках, активированных тромбоцитах и других клетках из мембранных фосфолипидов под действием фосфолипаз освобождается арахидоновая кислота. В эндотелиальных клетках из арахидоновой кислоты при участии циклооксигеназы синтезируются простациклин и ряд активных простагландинов.

Формирование первичной тромбоцитарной пробки в зоне повреждения сосудов возникает вследствие процесса, который можно условно разделить на 3 стадии:

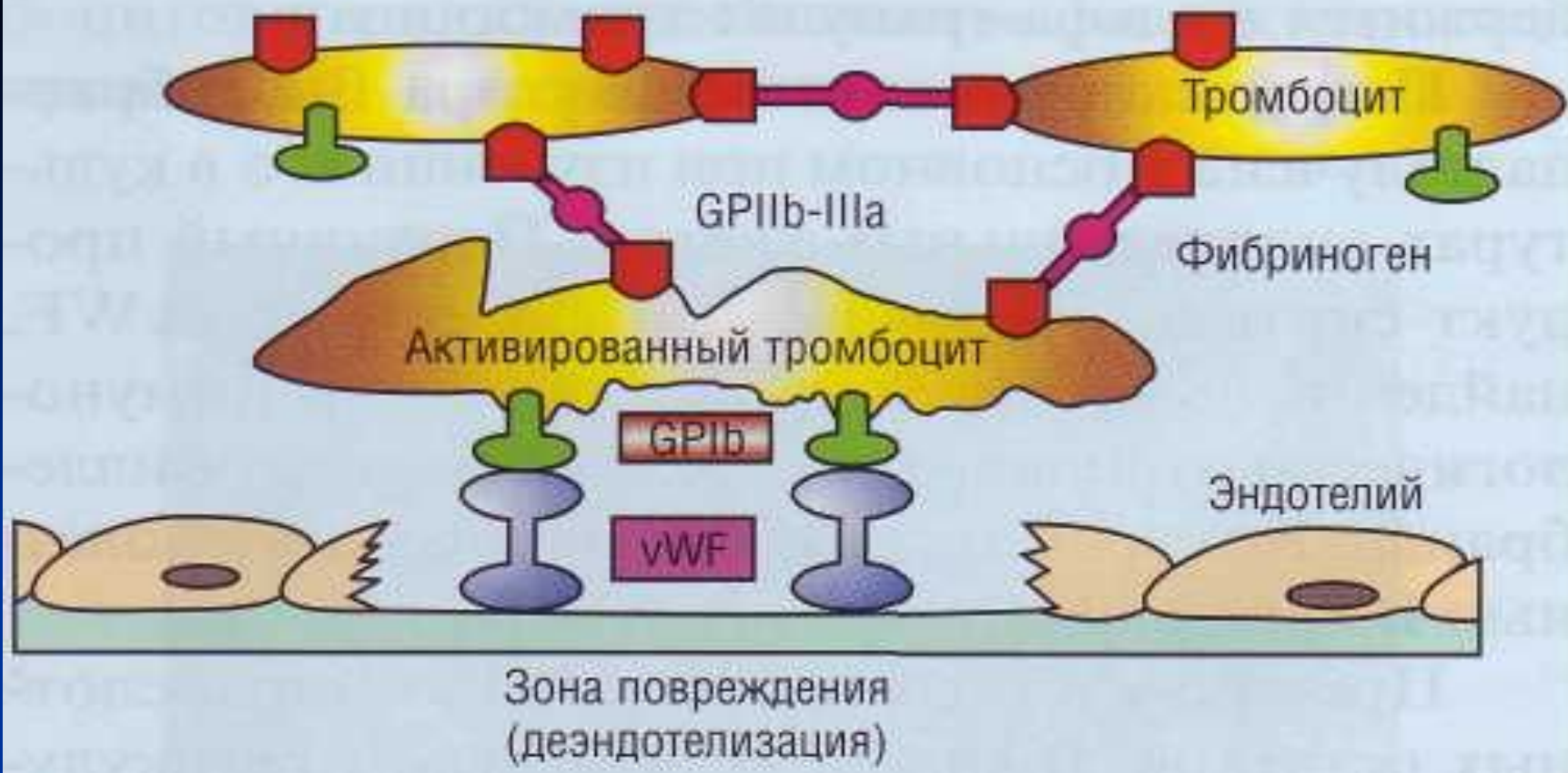
1 - *адгезия* тромбоцитов к субэндотелиальным структурам;

2 - *активация* этих тромбоцитов с выбросом медиаторов из гранул хранения;

3 - *агрегация* тромбоцитов.

Адгезированные тромбоциты на поврежденной сосудистой стенке





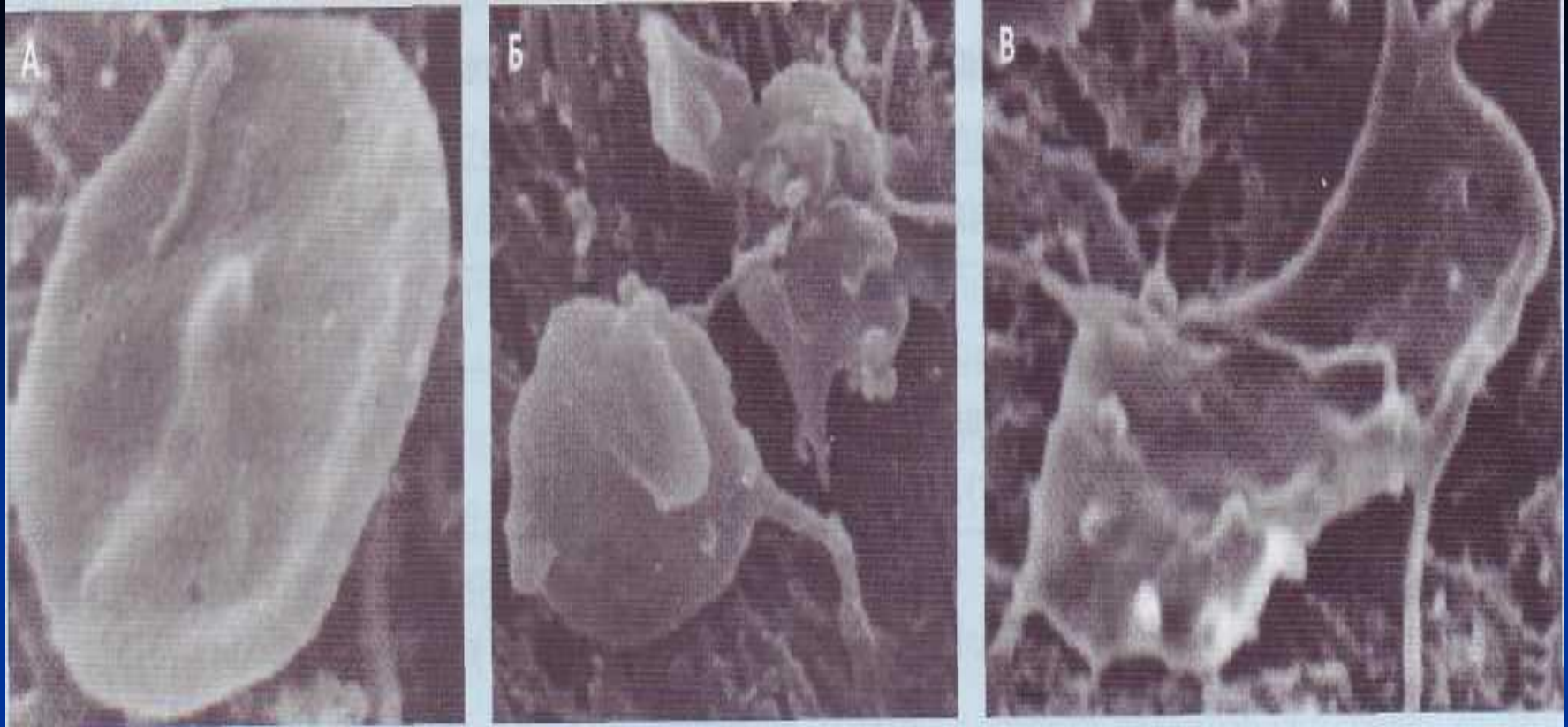
- **Фактор Виллебранда (vWF)** выполняет роль «биологического клея», прикрепляя к коллагену субэндотелия адгезированные тромбоциты через гликопротеиновый комплекс GPIb-V-IX.
- Тромб увеличивается в размерах по мере адгезии и агрегации новых тромбоцитов, скрепление которых в агрегат обеспечивает фибриноген, имеющий дивалентную структуру

Активация тромбоцитов может быть *обратимой*:

происходят лишь частичные конформационные изменения, обратимое соединение с другими клетками и частичная секреция гранул. Спустя небольшое время тромбоцит возвращается в интактное состояние и поступает в ток крови.

Если стимуляция длительная или сильная, происходит *необратимая* активация тромбоцита:

тромбоцит прочно фиксируется к другим клеткам или внеклеточным структурам, происходит полная дегрануляция и секреция содержимого пулов хранения. Если тромбоцит после необратимой активации поступает в ток крови, он не может в дальнейшем



Стадии контактной активации тромбоцитов:

- A** - неактивный тромбоцит (дискоцит, пластинка);
- Б** - тромбоциты в обратимой стадии контактной активации (шаровидные формы с псевдоподиями);
- В** - тромбоцит в необратимой стадии адгезии (распластанная форма без внутреннего содержимого -

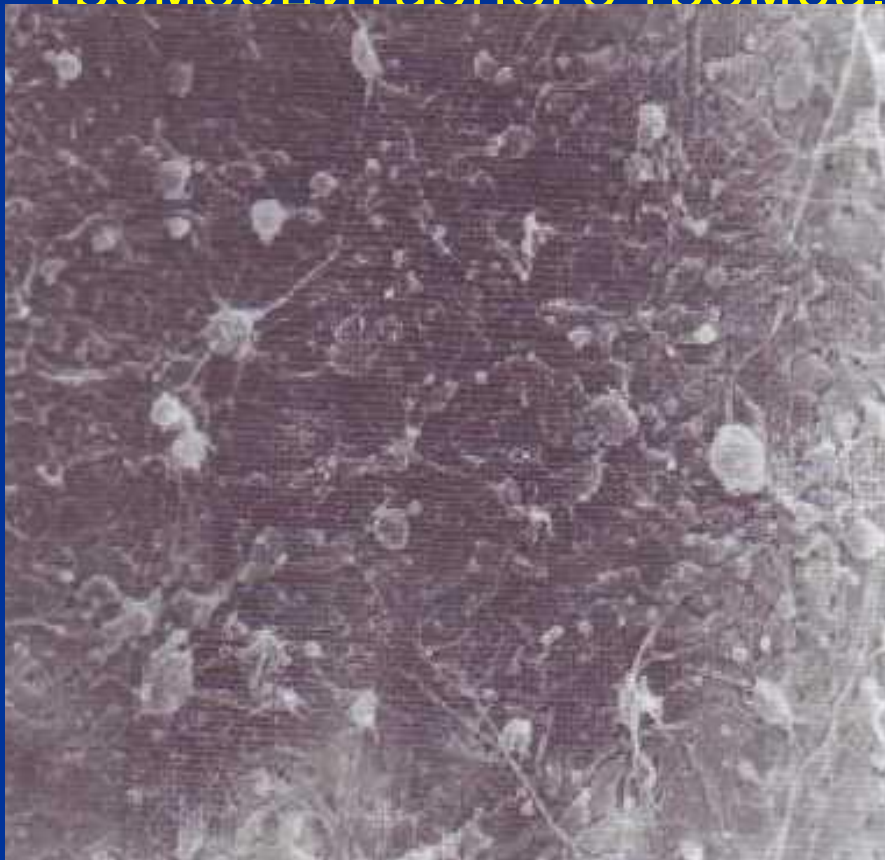
Активированные тромбоциты



Процесс агрегации заключается в присоединении активированных тромбоцитов, находящихся в токе крови, друг к другу и ранее фиксированным в области повреждения.

Вследствие распространения активирующего сигнала на агрегированные тромбоциты, удаленные от места повреждения, образуется толстый слой тромбоцитов, армированный фибрином.

Этот процесс лежит в основе образования тромбоцитарного тромба.



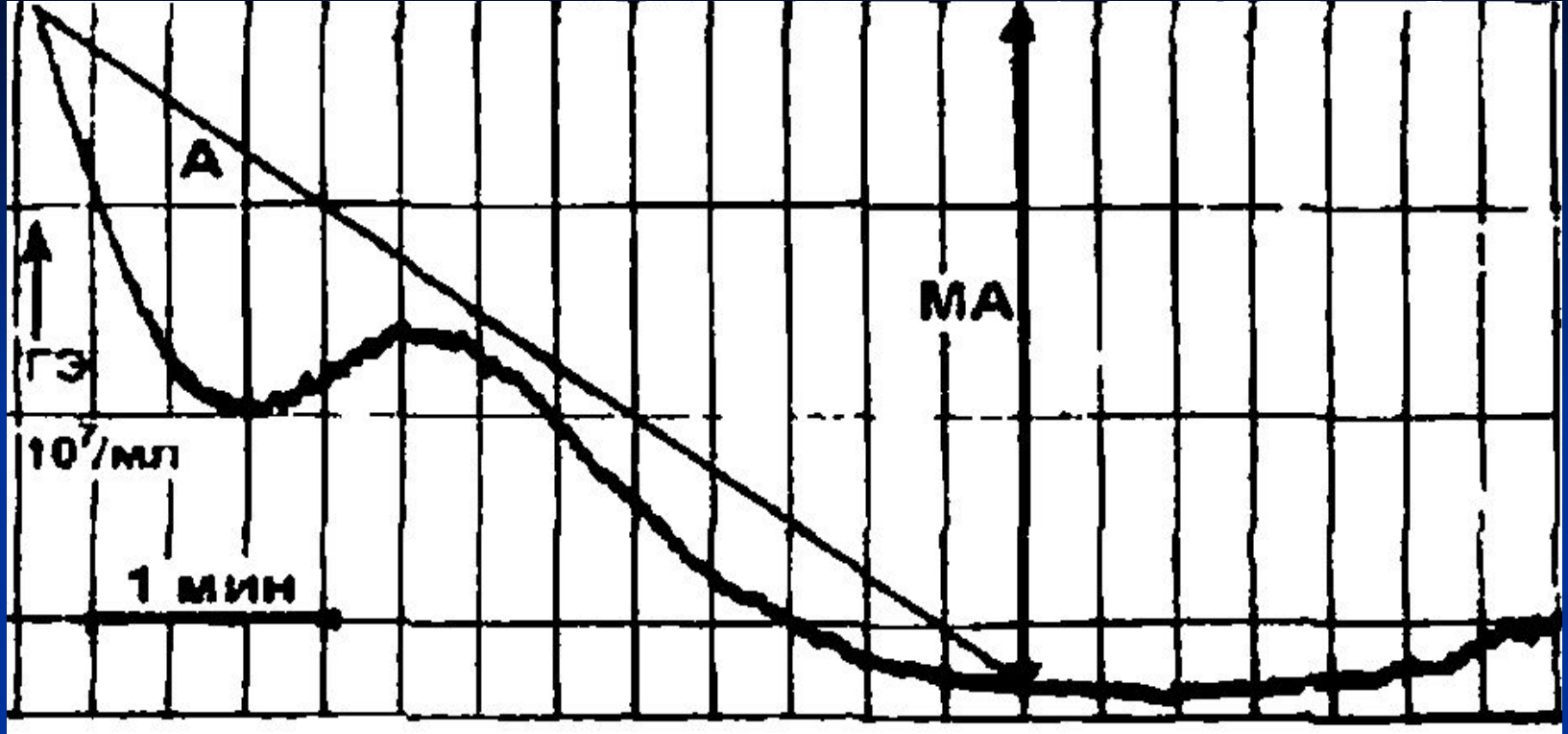
**Тромбоцитарный
тромб,
сформированный на
поврежденной
сосудистой стенке**

По мере удаления от зоны повреждения концентрация агонистов активации и агрегации тромбоцитов снижается и соответственно уменьшается активация тромбоцитов.

Дистально расположенные частично активированные тромбоциты отрываются от сгустка и возвращаются в кровоток.

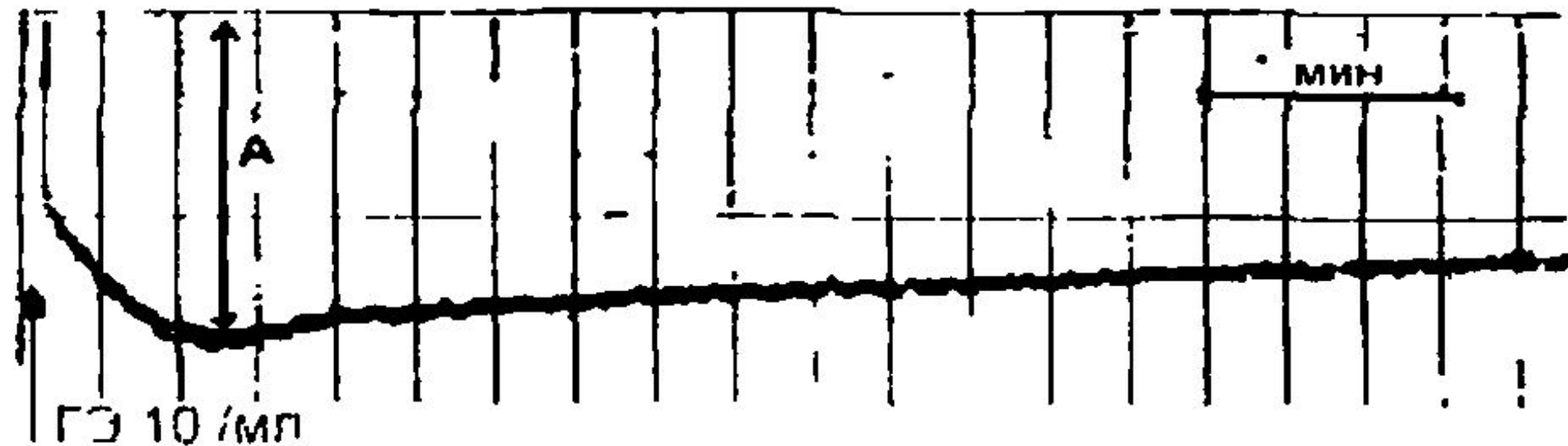
Таким образом, периферическая дезагрегация тромбоцитов предотвращает неограниченный рост

Двухволновая нормальная агрегатограмма



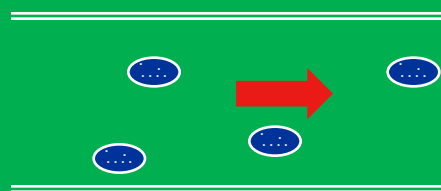
- При активации тромбоцитов под влиянием коллагена, первых порций АДФ, адреналина, тромбоксана A_2 и тромбина происходит быстрая активация и дегрануляция тромбоцитов.
- Резко увеличивается количество эндогенных стимуляторов агрегации и происходит дальнейшее усиление агрегации (поддержание второй волны на агрегатограмме)

Отсутствие второй волны агрегации и ранняя дезагрегация

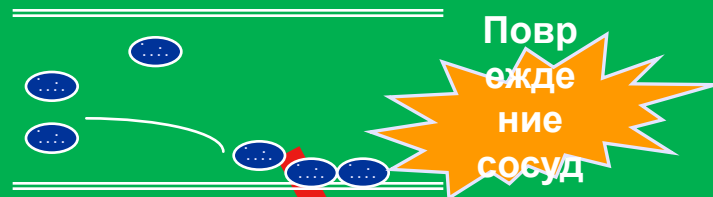


Когда в тромбоцитах отсутствуют плотные или α -гранулы либо нарушен процесс высвобождения содержащихся в них компонентов (что характерно для ряда тромбоцитопатий) на агрегатограмме отсутствует вторая волна и возникает ранняя дезагрегация

Сосудисто-тромбоцитарный (первичный) гемостаз



Тромбоцит
Интakтны
e Tr



Повр
ежде
ние
сосуд
а
Спазм сосуда под действием БАВ

1. Адгезия

тромбоцитов



2. Активация
Изменение формы



2. Активация
Реакция высвобождения



3. Агрегация (вторая волна)

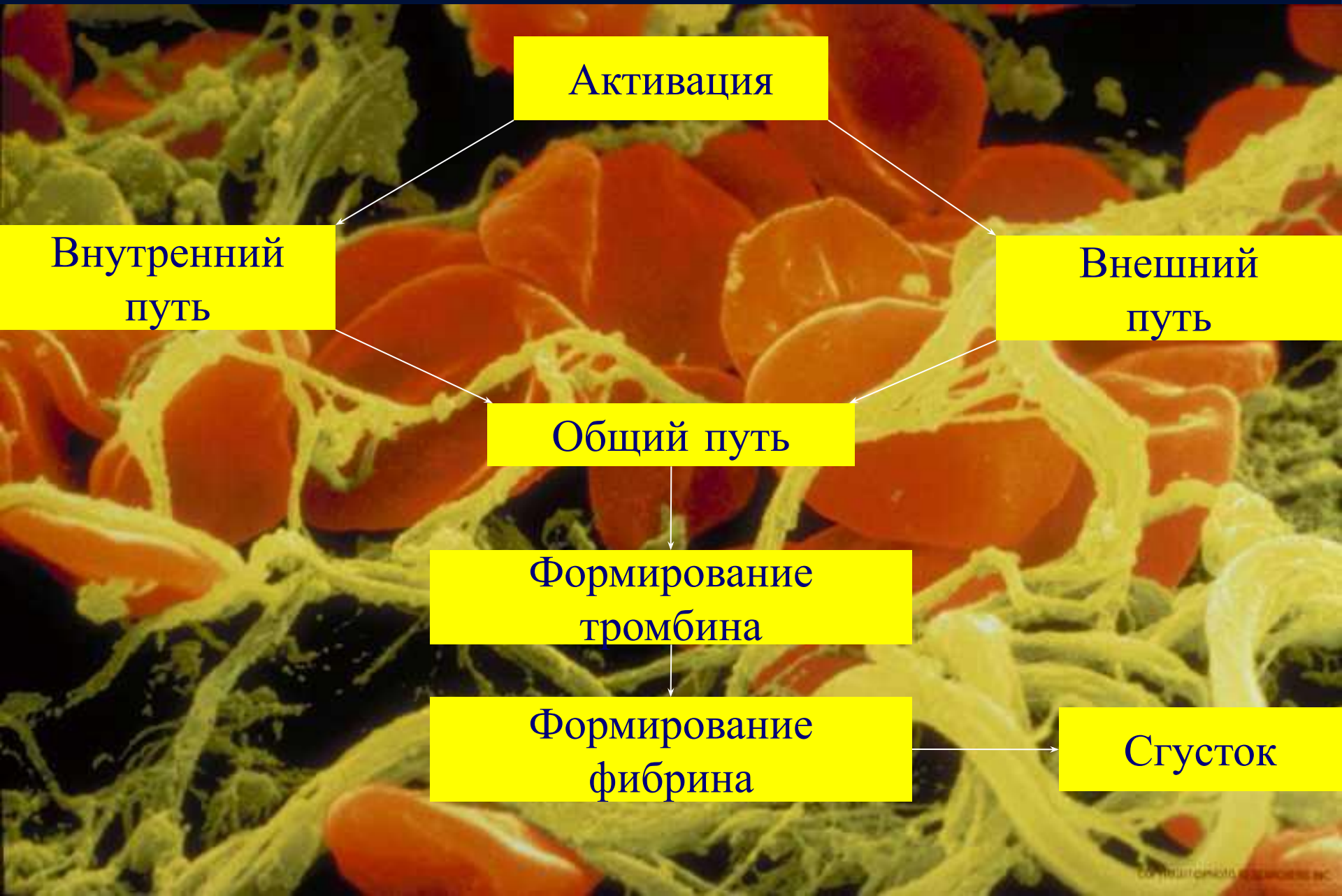
Тромбоцитарный сгусток

Ретракция сгустка крови

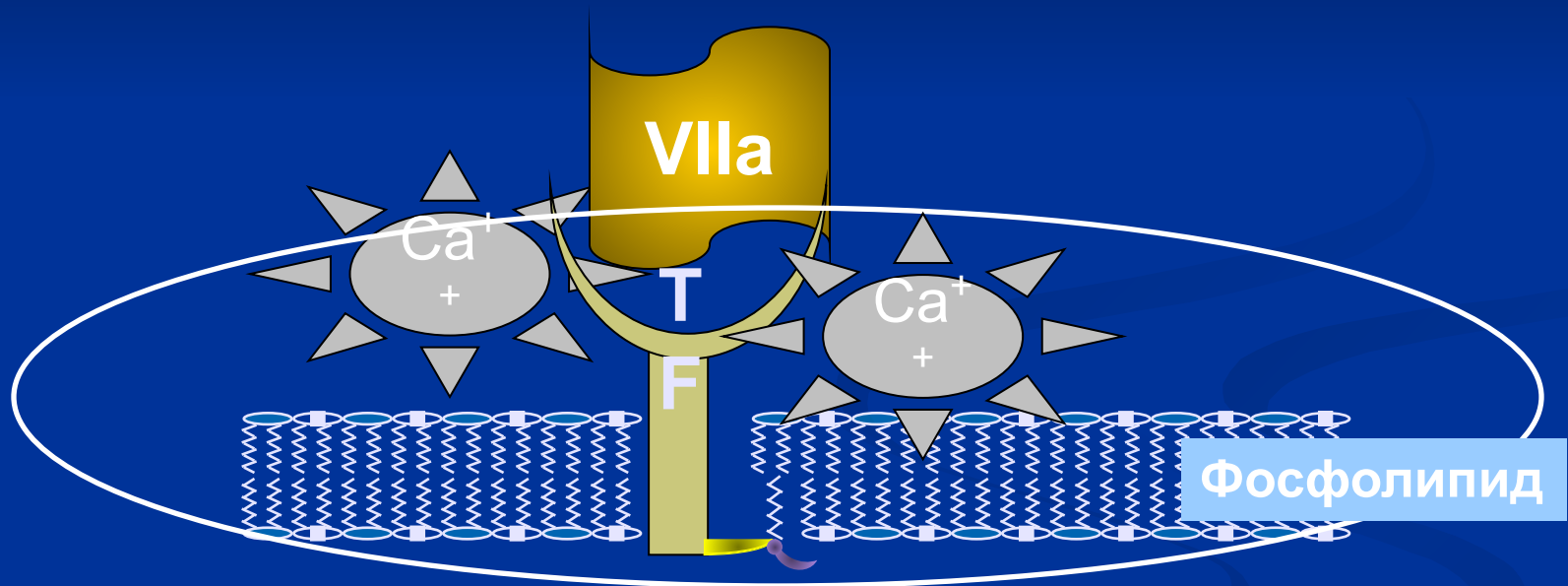
Ретракцией сгустка крови называют уплотнение сгустка с выделением из него избытка сыворотки.

Ретракция способствует улучшению механических характеристик сгустка и снижению активности фибринолиза внутри него.

Коагуляционный каскад



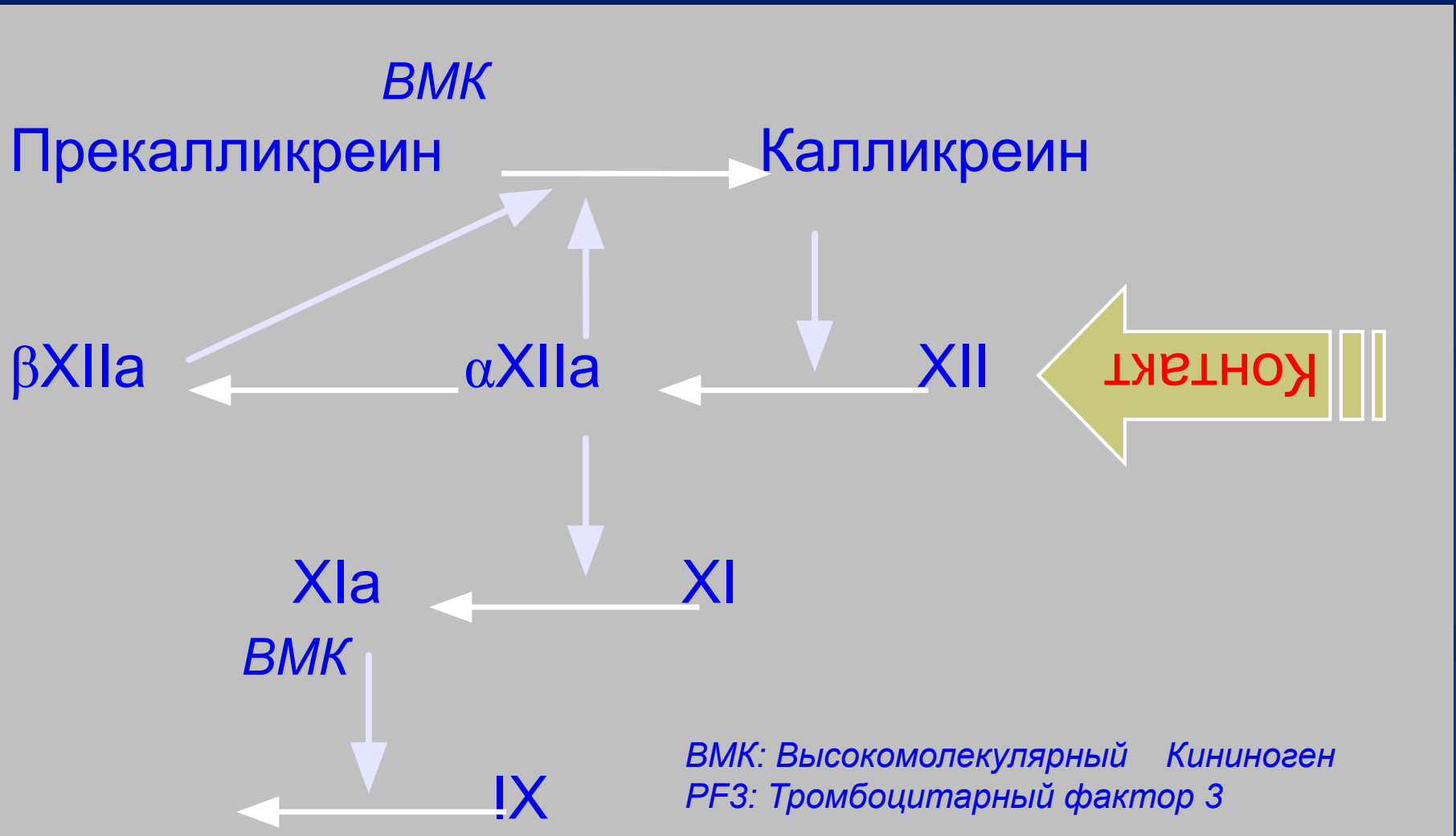
Активация фактора VII



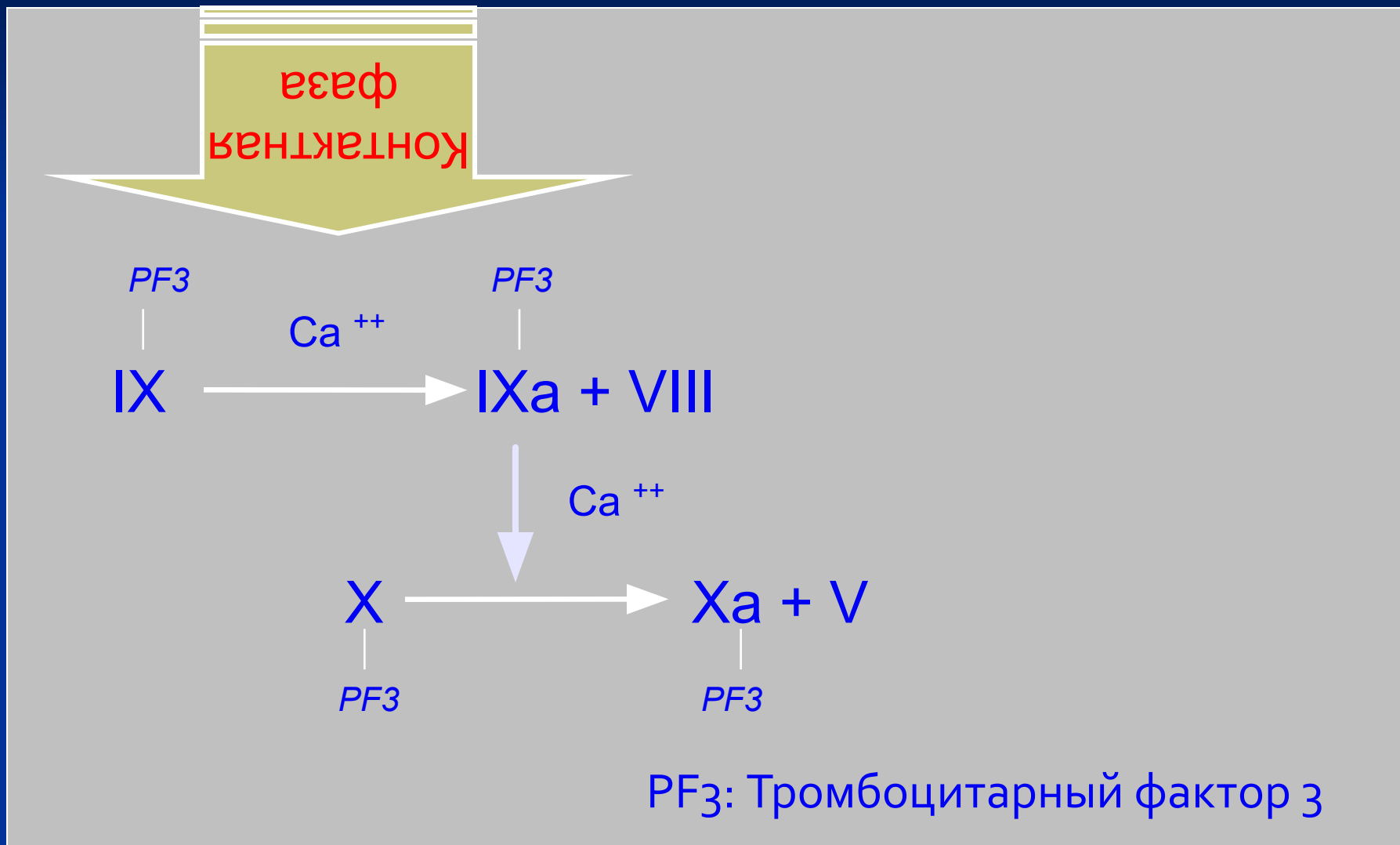
Тромбопластин: Тканевой фактор + фосфолипид + Ca²⁺

Adapted from G.J. Brose, Annu. Rev. Med. 1995, 46:103-12

Внутренний путь активации протромбиназы (1)



Внутренний путь активации протромбиназы (2)



Коагуляция крови

Внутренний путь



IX → IXa + VIII

Ca⁺⁺

I (фибриноген)

X

PF3

Ca⁺⁺

Xa + V

PF3

Ca⁺⁺

PF3

(тромбин) IIa

free

II

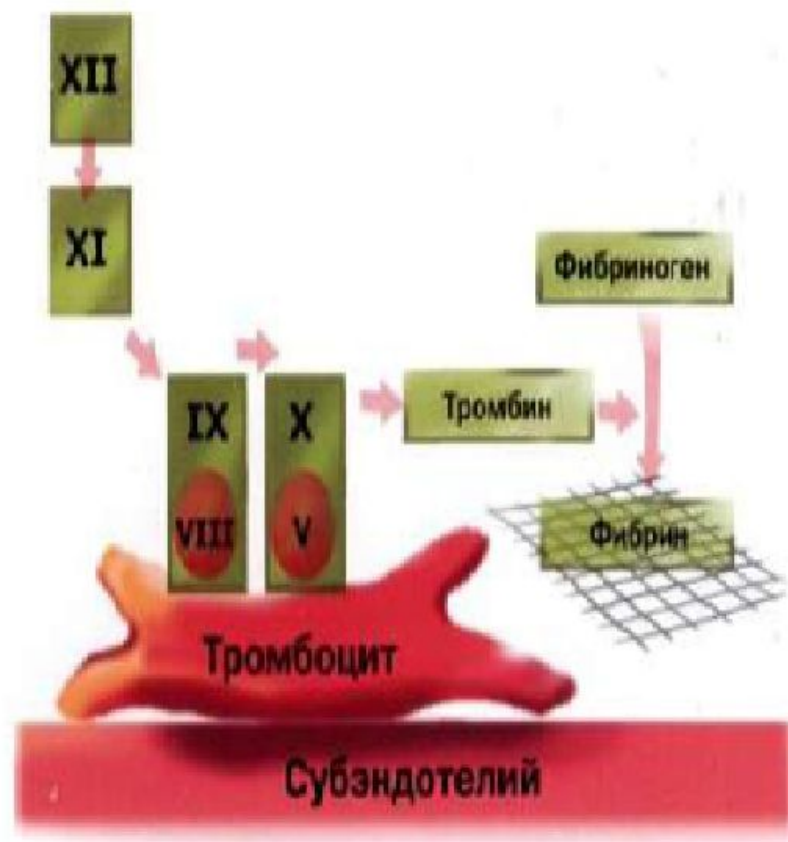
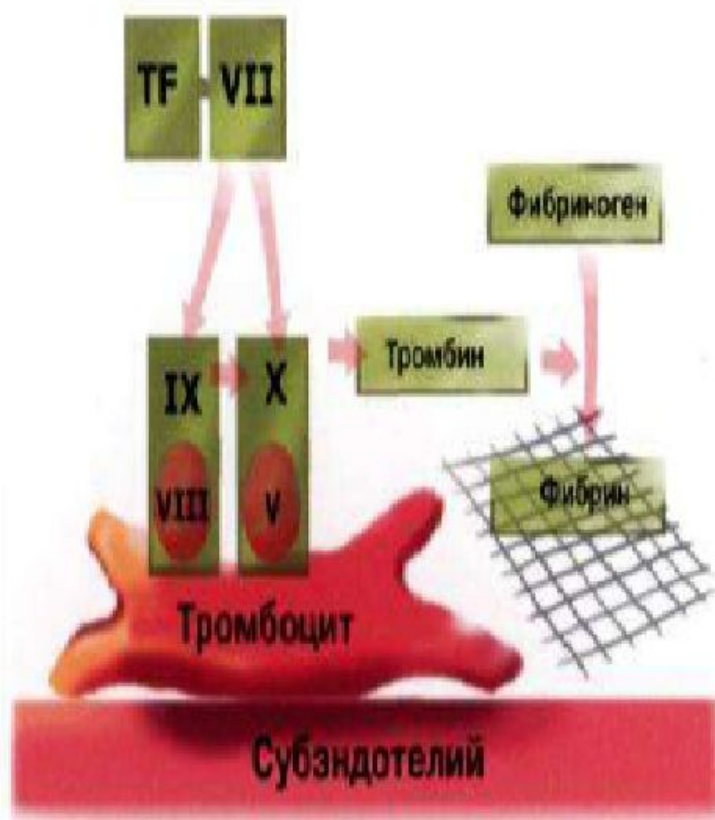
Фибрин мономер

Сгусток

PF3: Platelet Factor 3

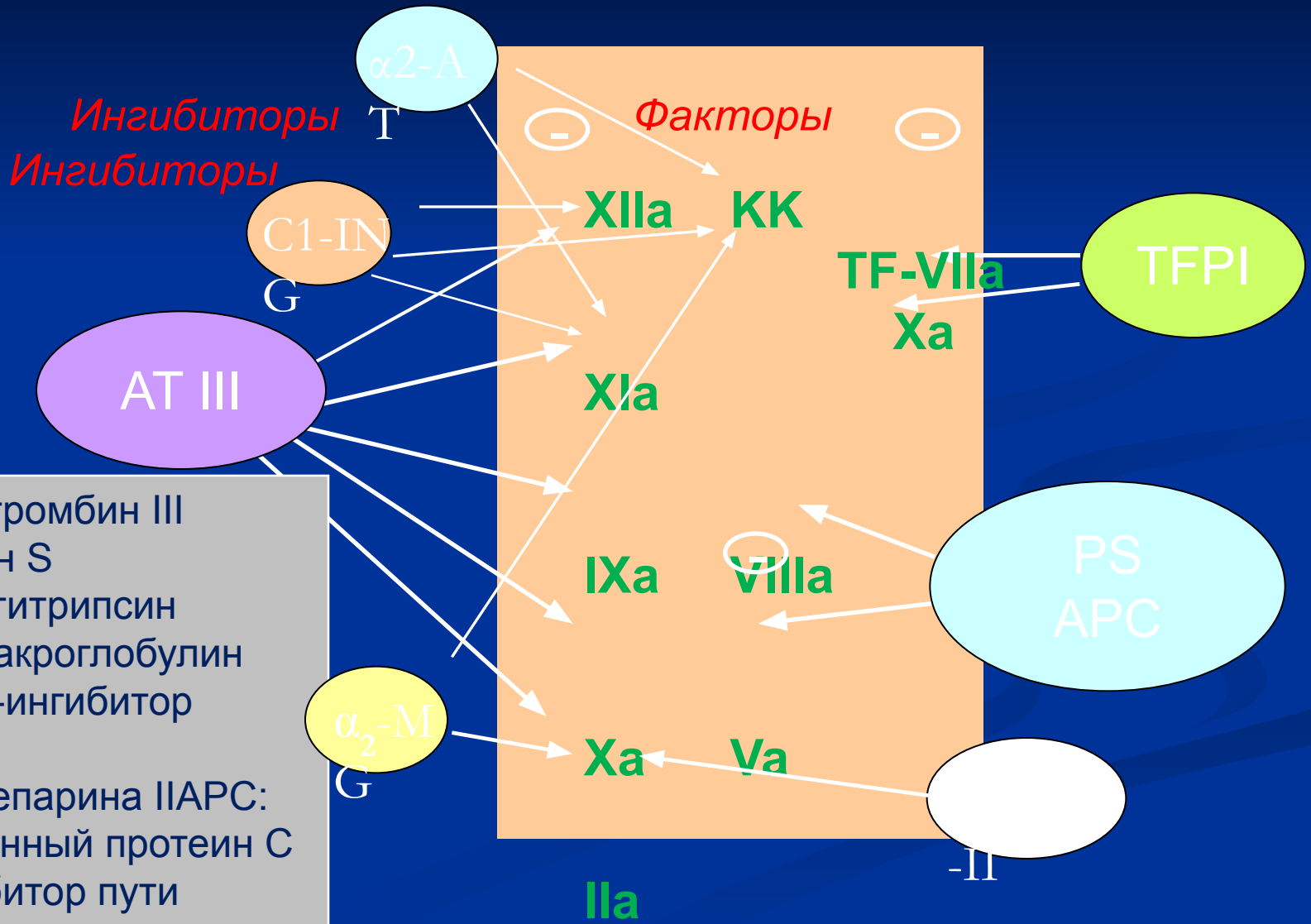


Коагуляционный гемостаз





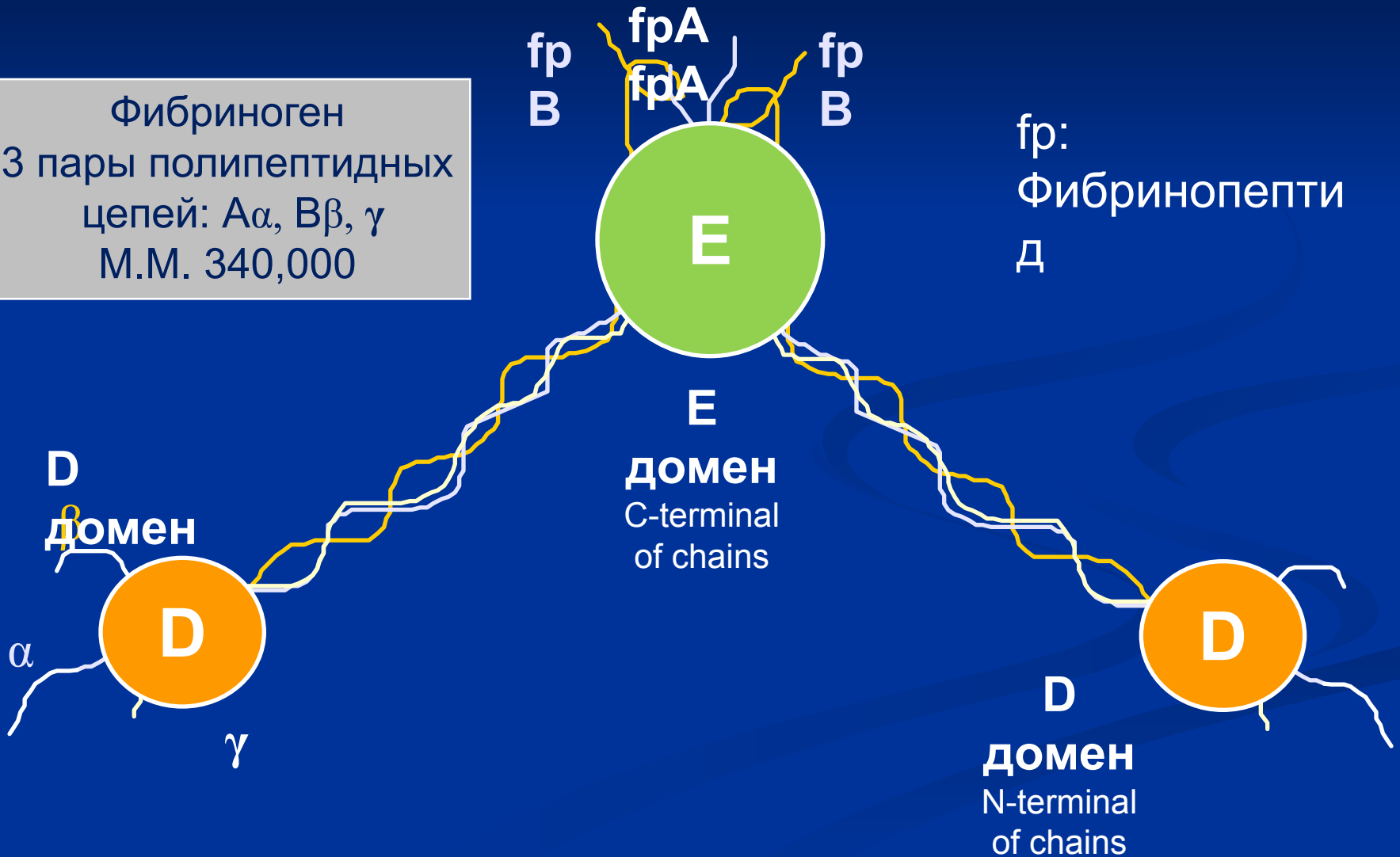
Ингибиторы коагуляции



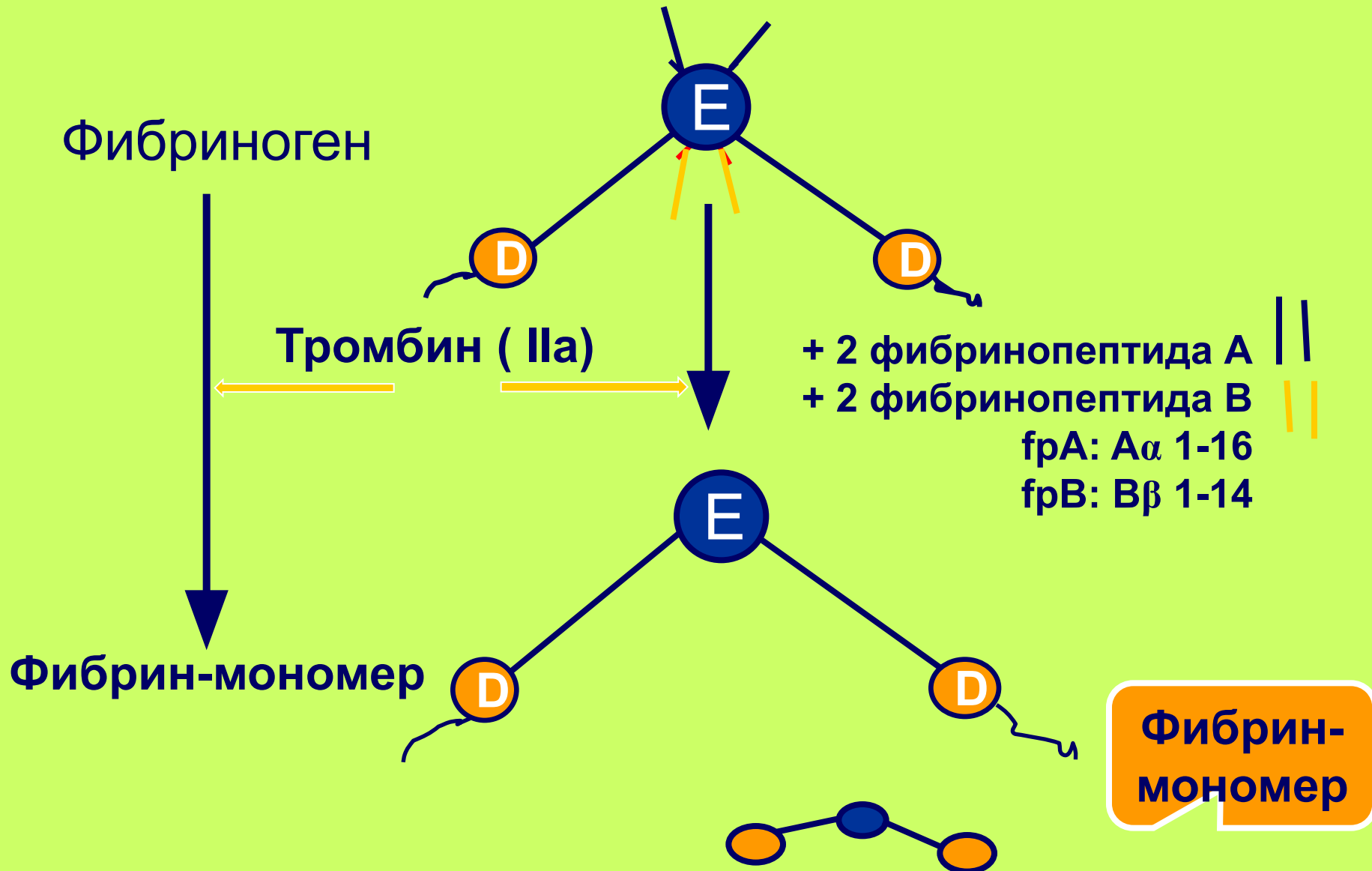
AT III: Антитромбин III
 PS: Протеин S
 α_2 -AT: α_2 -антитрипсин
 α_2 -MG: α_2 -макроглобулин
 C1-ING: C1-ингибитор
 HpCF-II:
 Кофактор гепарина IIAPC:
 Активированный протеин C
 TFPI: Ингибитор пути
 тканевого фактора

Структура фибриногена

Фибриноген
3 пары полипептидных
цепей: $A\alpha$, $B\beta$, γ
М.М. 340,000



Формирование фибрина



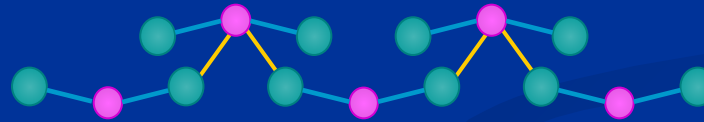
ФОРМИРОВАНИЕ ФИБРИНОВОГО СГУСТКА

Фибриноген



Тромбин

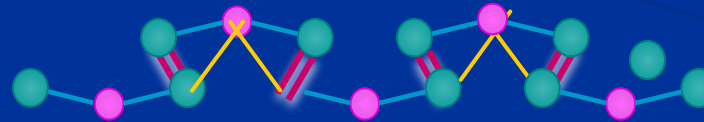
Фибрин мономер +
фибринопептиды



Растворимый
Фибрин полимер



XIIIa

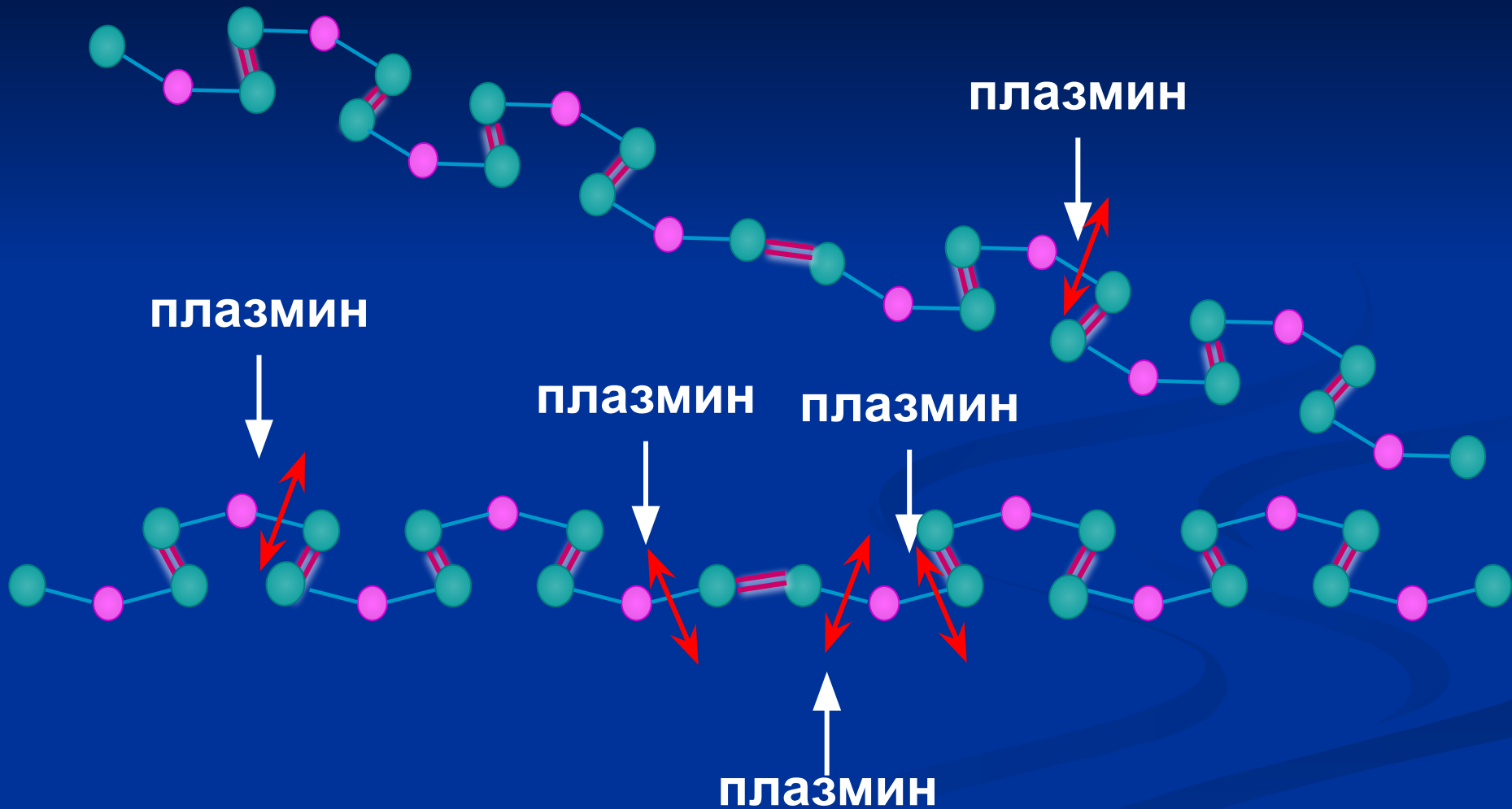


Стабилизированный (нерастворимый)
Фибриновый сгусток

Эритроцитарно-тромбоцитарный сгусток и сеть фибрина



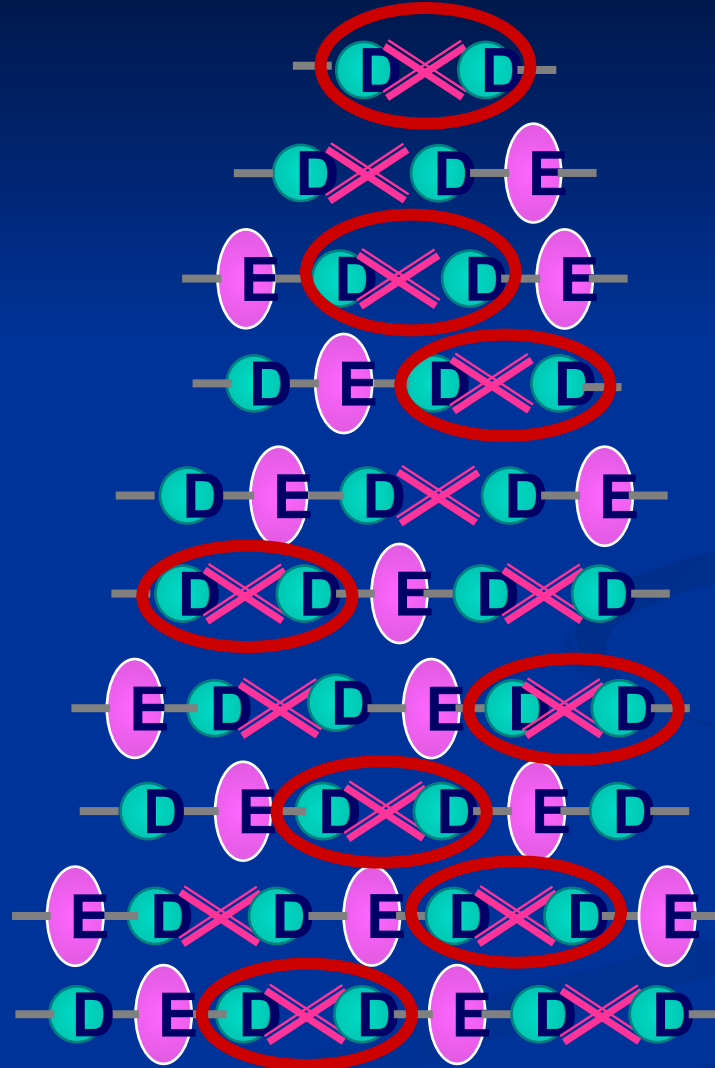
Фибринолиз



Д-димер - специфический продукт расщепления поперечно-сшитого фибрина плазмином

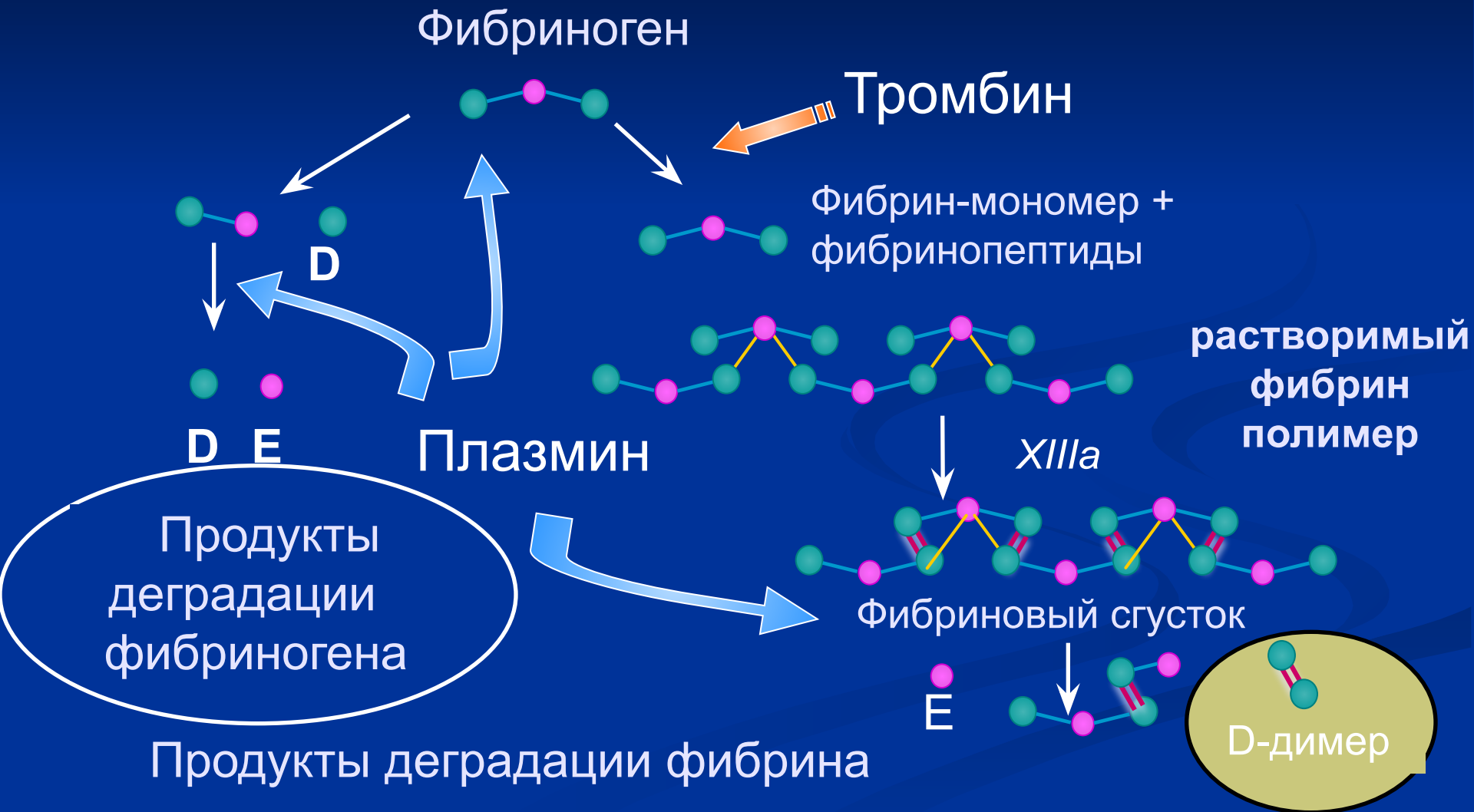
DD

D
Y
Y
Y
X
D
X
Y
D
X
D
X
X
D
X
Y
Y
X
X
Y
X
D

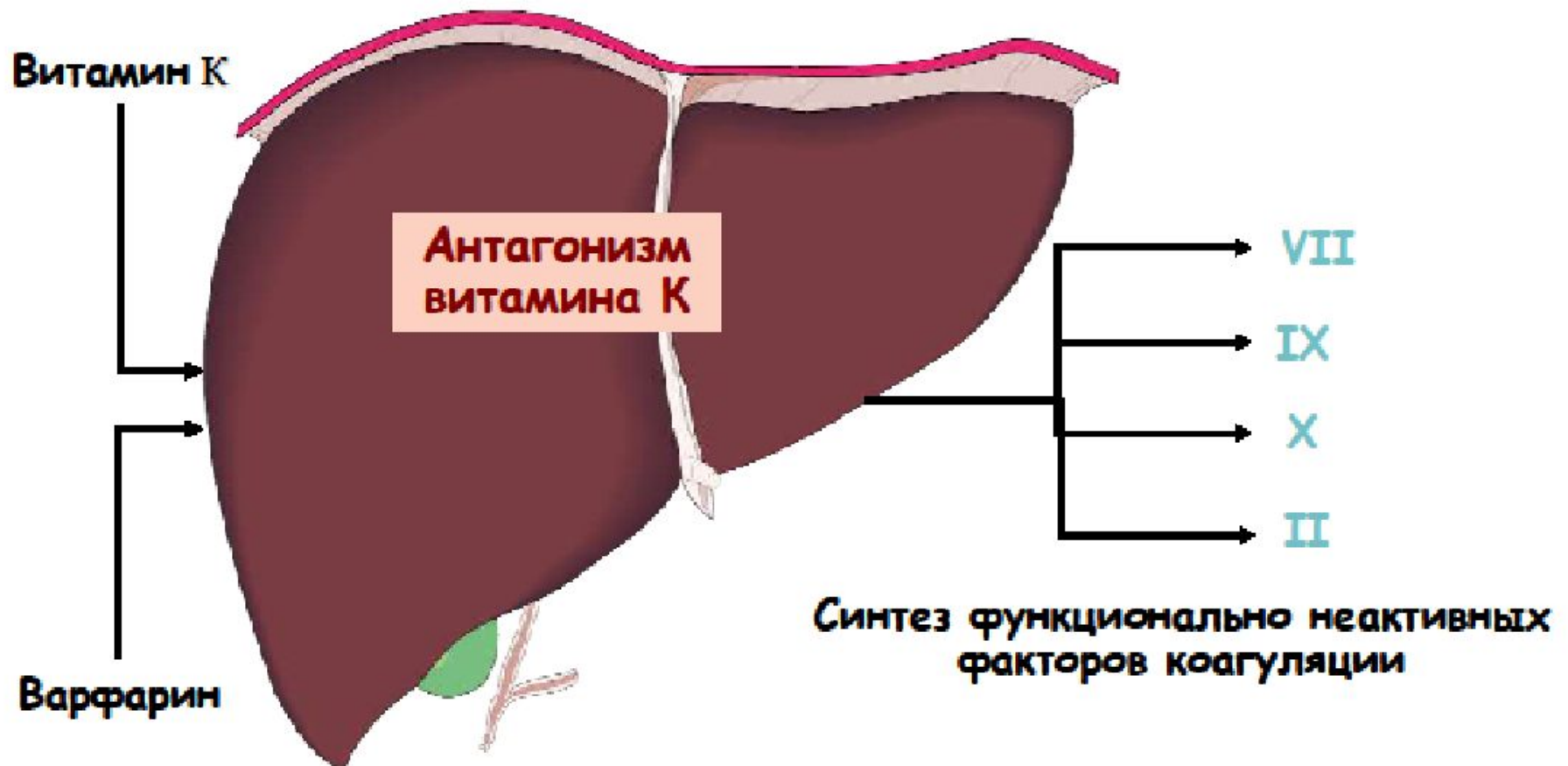


Фибринолиз

Фибринолиз



Варфарин: механизм действия



Рутинные тесты системы гемостаза

AT III

Рутинные коагулологические тесты оценивают лишь некоторые отдельные цепочки коагулологического каскада или уровень отдельных факторов свертывания, но не весь каскад в целом.