



Запорізький державний медичний університет
Кафедра клінічної лабораторної діагностики

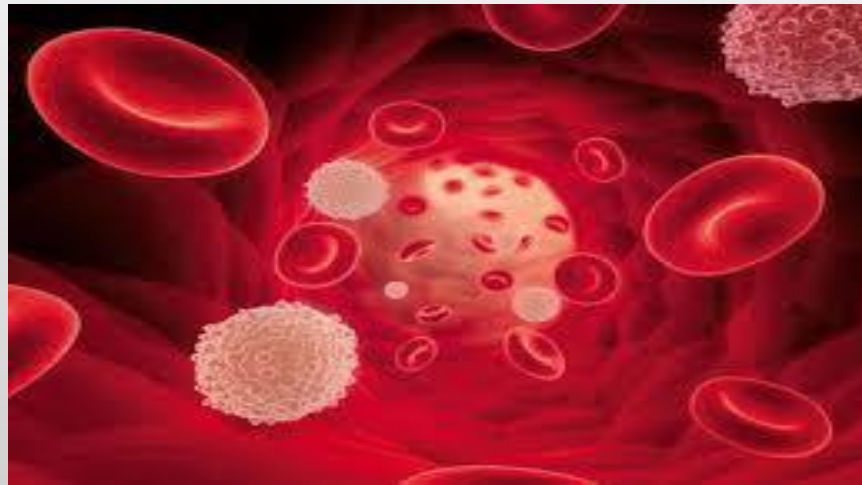
МОЛЕКУЛЯРНИЙ МОНІТОРИНГ СИСТЕМИ ЗГОРТАННЯ КРОВІ

д.мед.н. Павлов С.В.



Згортання крові – це багатоступінчастий, ферментативний процес, що протікає по типу каскаду; активація здійснюється за допомогою факторів, які викидаються в кров або навколоклітинну рідину при пошкодженні клітин і тканин.

Гемостаз – зупинка кровотечі, спрямована на підтримання маси циркулюючої крові; являє собою сукупність фізіологічних і біохімічних процесів; складається з трьох компонентів.



Характеристика факторів зсідання крові.

- Плазмові: постійно містяться в крові;
- Клітинні:
 - тромбоцитарні, пластинчасті;
 - еритроцитарні;
 - лейкоцитарні;
 - тканинні: виділяються в тканинну рідину і кров при пошкодженні клітинних мембран.

Молекули, асоційовані з клітинною ланкою гемостазу Тромбоцитарний фактор 4 (PF4)

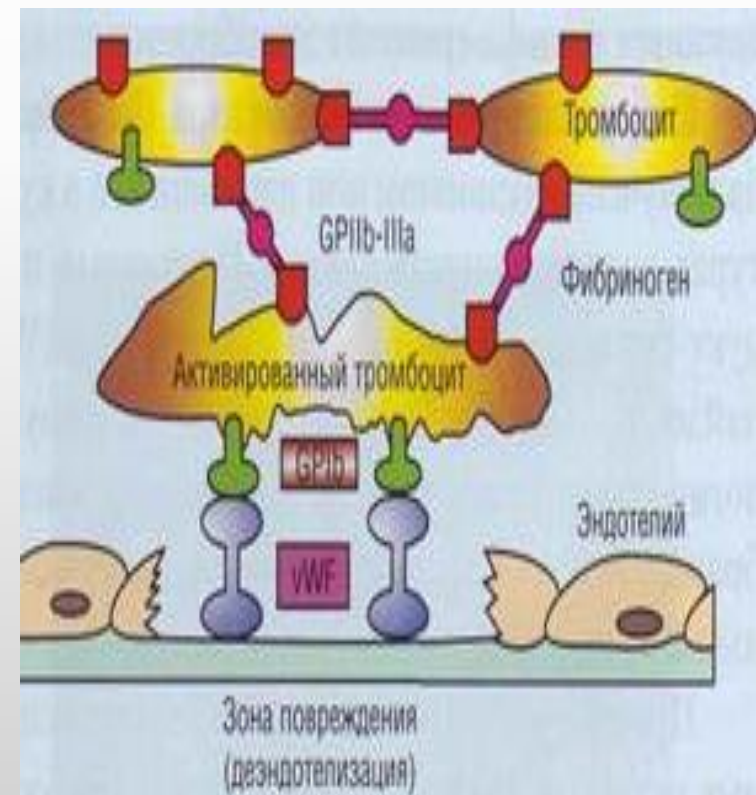
PF4 вивільняється в плазму з α -гранул тромбоцитів при їх активації. PF4 характеризується антигепариновою активністю, формуючи з них стехіометричний комплекс.

Підвищений рівень PF4 спостерігається в різних ситуаціях при сильній активації тромбоцитів, наприклад, при запаленнях інфекційної природи, ДВС-синдромі, первинній поліцитемії, цереброваскулярних порушеннях, діабеті, захворюваннях нирок, онкологічних захворюваннях та при екстракорпоральній циркуляції крові.

Кількість та активність фактора Вілебранда (vWF)

vWF – складний мультимерний адгезивний глікопротеїн, який синтезується ендотеліальними клітинами і мегакаріоцитами, що циркулює в плазмі крові із середнім періодом напіврозпаду близько 18 год., його концентрація в нормі становить 10 мкг/мл

vWF є носієм-стабілізатором для прокоагулянтного протеїну FVIII:C, циркулюючи в сироватці у вигляді нековалентно пов'язаного комплексу. **vWF** може взаємодіяти з колагеном та іншими ендотеліальними структурами, опосередковує адгезію тромбоцитів.



vWF також бере участь у тромбоцит-тромбоцитарній взаємодії через зв'язування глікопротеїну IIb/IIIa. Опосередкована **vWF** адгезія тромбоцитів, **відбувається більш інтенсивно при високих швидкостях зсуву, тобто в артеріях.** Підвищені рівні **vWF** - індикатор пошкодження ендотелію при судинних захворюваннях (цукровий діабет, атеросклероз, гестоз і т. д.)

Коротке підвищення vWF після фізичного навантаження, введення адреналіну або вазопресину, а також під час вагітності може бути швидше **показником активації ендотеліальних клітин, ніж ушкодження.**

Зниження концентрації vWF виявлено при гіпотиреозі і системному червоному вовчаку.

ADAMTS-13 та його інгібітор

ADAMTS-13 – металопротеїназа, що належить до сімейства пептидазних білків «ADAM». Біологічна роль протеїназ цього сімейства – розщеплення екстрацелюлярного домену трансмембранних білків. ADAMTS-13 необхідна, **по-перше:** для вивільнення vWF в плазму, а **по-друге:** для регулювання надмірної його активності.



Недолік активності ADAMTS-13 призводить до важкого аутоімунному захворювання – **тромботичної тромбоцитопенічної пурпури**. У цьому випадку мультимери vWF залишаються заякіреними на мембрані ендотеліальної клітини, а концентрація в vWF в плазмі залишається низькою. У свою чергу тромбоцити адгезуються на цих «заякірених» мультимерах vWF, і в результаті у непошкодженій судині розвивається локальний тромб.



Тромбопоетин (MGDF)

Тромбопоетин - фактор зростання мегакаріоцитів (MGDF), – глікозильований поліпептид з м.м. 60-70 кДа, що синтезується гепатоцитами і стромальних клітинами кісткового мозку. Тромбопоетин викликає **підвищення кількості мегакаріоцитів, покращує їх життєздатність, прискорює клітинний цикл.** Рівень циркулюючого тромбопоетину визначають при різних патологічних станах: при ідіопатичних формах тромбоцитопенічної пурпури і тромбоцитонемії, при цирозі печінки і деяких видах тромбоцитопенії.

NB!!! Хоча тромбопоетин стимулює проліферацію мегакаріоцитів, **прямою кореляцію** між його рівнем і **числом тромбоцитів не спостерігається.**

Вітронектин (ВН)

ВН – поліфункціональний глікопротеїн (м. м. 78 кДа), компонент крові і позаклітинного матриксу. ВН синтезується в печінці, нормальна концентрація в плазмі становить 250-450 мкг/мл. ВН взаємодіє з комплементом, гепарином, комплексом тромбін-антитромбін III, що вказує на його участь у імунній відповіді і регуляції згортання крові. **Одна з найважливіших функцій ВН у регуляції гемостазу – стабілізація інгібуючої конформації PAI-1 (інгібітора активації плазміногену 1).** У відсутності ВН PAI-1 залишається в латентній формі і не інгібує активацію плазміногену. **50% зниження рівня ВН спостерігається при ДВЗ-синдромі та цирозі печінки.** **Відкладення ВН на стінках судин асоційоване з атеросклеротичними захворюваннями.**

Тромбоспондін-1 (TSP-1)

TSP-1 – глікопротеїд з м. м. 165 кДа, поряд з TSP-2, -3, -4 і -5 становить однойменне сімейство білків. Найбільша кількість TSP-1 представлена в альфа-гранулах тромбоцитів і секретується в плазму у відповідь на їх активацію гормонами і цитокінами.

Взаємодія TSP-1 з CD36, експресованому на ендотеліальних клітинах, інгібує їх проліферацію, блокує процес ангиогенезу і непрямим чином посилює апоптоз ендотеліальних клітин. TSP-1, утворює комплекси з колагеном, гепарином, є сильним агрегуючим фактором, опосередковує адгезію тромбоцитів до субендотелію.

Тромбоспондін-2(TSP-2)

TSP-2 (THBS-2) – білок сімейства тромбоспондинів з м. м. 150 кДа. Аналогічно TSP-1 він викликає безліч біологічних реакцій: проліферацію, агрегацію, клітинну рухливість, ангиогенез, загоєння ран. TSP-2 забезпечує взаємодію клітин екстрацелюлярним матриксом, що відносять до його основної функції.

TSP-2 регулює утворення колагенового матриксу, змінюючи поведінку фібробластів при розвитку організму і в області тканинного ремоделювання у дорослих. Було показано, що в серці тромбоспондин-2 може також виконувати функцію підтримання цілісності матриксу міокарду, а в нервовій системі сприяє синаптогенезу.

Молекули плазмової ланки

гемостазу Тканинний фактор(TF)

TF (тромбопластин або фактор III) – мембранозв'язуючий глікопротеїн, що функціонує як рецептор і кофактор фактора VII (зимогенній і активній формі), ініціює активацію зовнішнього шляху згортання. При пошкодженні судинного ендотелію відбувається взаємодія фактора VII з TF, і утворений комплекс TF/fVIIa активує через реакції обмеженого протеолізу фактори IX і X. Запуск каскаду системи згортання в результаті призводить до генерації тромбіну і утворення фібринових згустків. **Висока концентрація TF асоційована з ризиком тромботичного ризику, зокрема, з розвитком ДВЗ-синдрому.**

Інгібітор шляху тканинного фактору (TFPI)

TFPI – головний інгібітор, блокуючий гіперактивацію системи гемостазу при підвищених концентраціях ТФ. TFPI циркулює у плазмі у вигляді комплексу з ЛПНЩ і ЛПВЩ. Близько 10% TFPI знаходиться в тромбоцитах, при активації цих клітин тромбином TFPI вивільняється в плазму. Тому **при агрегації тромбоцитів рівень TFPI підвищується**. У плазмі TFPI представлений формами масою 34 і 40 кДа, концентрація становить приблизно 50 - 100 нг/мл **Вимірювання TFPI** може мати значення у вивченні **тромбоутворення, атеросклерозу і дії гепарину**. Більш високі рівні TFPI у плазмі були знайдені у осіб похилого віку, вагітних жінок і пацієнтів з пізніми стадіями раку.

Фактор VII (fVII)

fVII – зимогенна форма ферменту «fVIIa», активуючого зовнішній шлях каскаду згортання. **Активація fVII призводить до подальшого запуску реакцій коагуляції з участю факторів IX, X, XII та тромбіну. Ферментна активність fVII зростає при утворенні комплексу з TF. Активна fVII відіграє роль в розвитку ішемічної хвороби серця. Нормальна концентрація fVII в плазмі – близько 500 нг/мл**

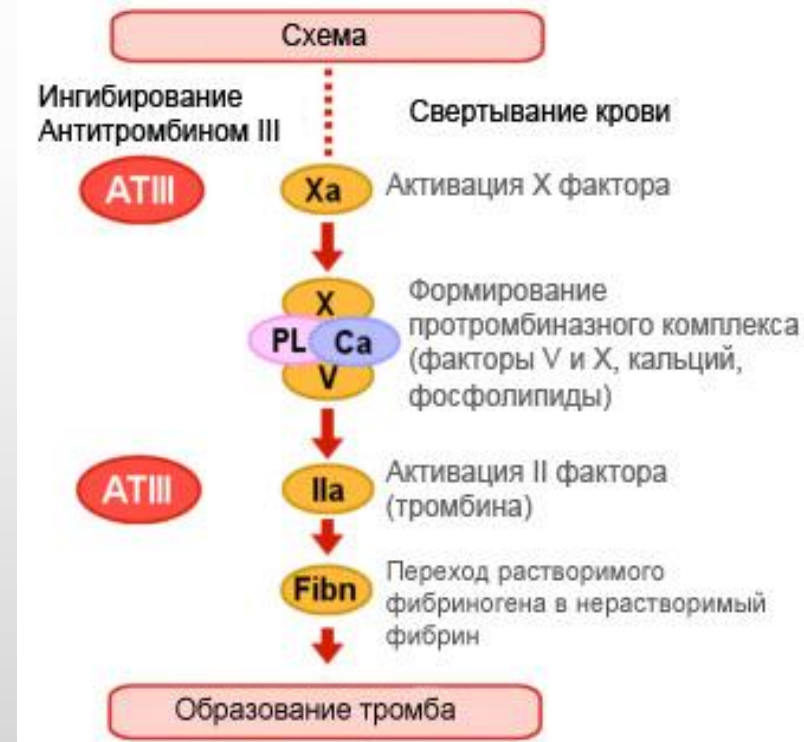
Фібринопептид А (FPA)

FPA утворюється при ферментативній дії тромбіну в результаті відщеплення від N-кінця А α -ланцюга фібриногену. Підвищений рівень FPA в крові говорить про гіперактивність тромбіну і разом з Д-дімером є маркером ДВЗ-синдрому і ризику розвитку тромбозів.

Антитромбін 3

Антитромбін 3 — це основний плазмований білковий фактор, що синтезується, в основному, в судинному ендотелії і клітинах печінки. Надає антикоагуляційну дію на процеси згортання крові, запобігає надмірне згортання.

Діє як антикоагулянт (шляхом прямого зв'язування і інактування факторів зсідання крові VIIa, XIa, XIIa, XIIIa, IIa, тромбіну). **Однією з основних мішеней є тромбін.**



Значення антитромбіну III підвищено в наступних випадках:

запальні процеси, гострий гепатит, холестааз, дефіцит вітаміну К, прийом антикоагулянтів, важкий гострий панкреатит, рак ПЗ, лікування анаболічними препаратами.

Значення антитромбіну III знижено у наступних випадках:

вроджений дефіцит, атеросклероз, останній триместр вагітності, після хірургічних операцій, при захворюваннях печінки (хронічні гепатити, цироз), ДВЗ-синдром, хронічна печінкова недостатність, тромбоемболія, сепсис, тривале введення гепарину, прийом пероральних контрацептивів.



Основные показания к анализу на антитромбин:

- тромбоэмболические осложнения
- пациенты до 50 лет с положительным семейным анамнезом тромбообразования
- повторные тромбозы различной локализации

ПЛАЗМИНОВА СИСТЕМА

Тканинний активатор плазміногену (t-PA)

t-PA – глікопротеїн з м. м 70 кДа, який є основним активатором фібринолітичної системи. Він синтезується ендотеліальними клітинами і секретується в кров після P впливу різних стимулів, наприклад, таких як венозна оклюзія або фізичне навантаження. Концентрація циркулюючого t-PA у плазмі становить приблизно 2-8 нг/мл Однак 95% циркулюючий t-PA входить до складу комплексу з **інгібітором активатору плазміногену (PAI-1)**, отже, перебуває не в активному стані.

***NB!!!* ВИЗНАЧАЮТЬ ЯК ЗАГАЛЬНУ КОНЦЕНТРАЦІЮ
ТАК І АКТИВНІСТЬ!!!**

Результати аналізу можна розділити на групи і припустити причини виниклих патологій.

- 1. Підвищений рівень і активність t-PA.** Такі результати свідчать про збільшення викиду t-PA, який не збалансований відповідним посиленням викиду PAI-1. Це вказує на первинний гіперфібриноліз і, ймовірно, призведе до утворення плазміну, витрати інгібіторів плазміну та деградації інших білків плазми, таких як фібриноген і фактор VIII.
- 2. Підвищений рівень і нормальна активність t-PA.** Підвищений рівень t-PA антигену при нормальній його активності говорить про зниження деградації t-PA, що спостерігається при різних захворюваннях печінки і при гепаринової терапії.

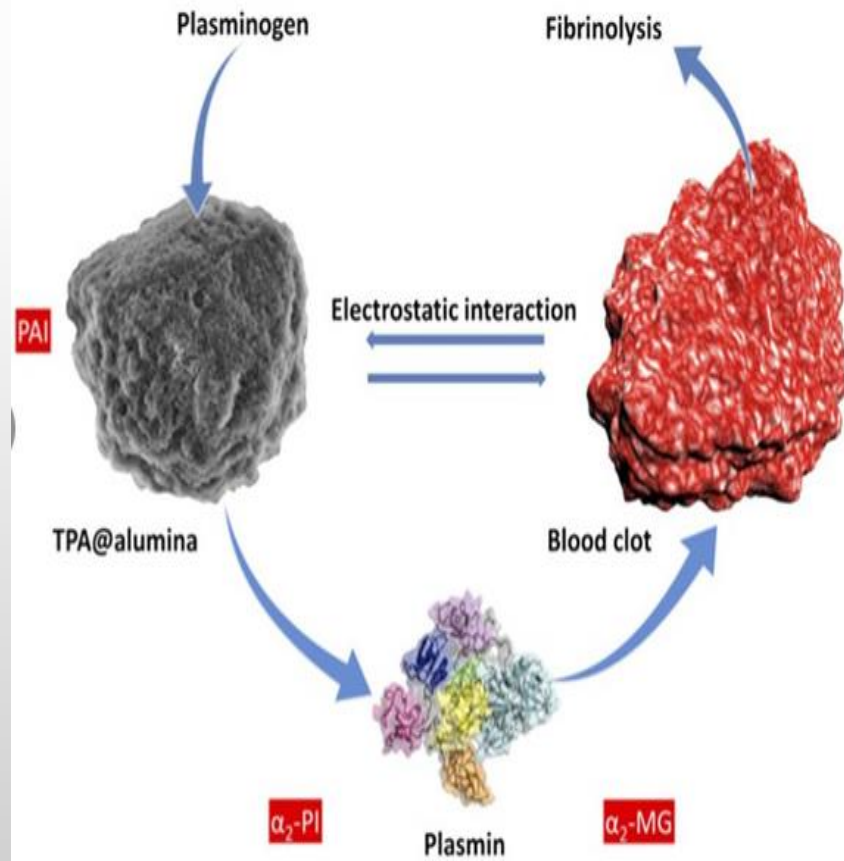
3. Знижений рівень і активність t-PA – свідчать про низьку секрецію t-PA. Приблизно 90% всіх пацієнтів, що страждають тромбозом потрапляють в цю групу.

4. Знижена активність при нормальному рівні t-PA. На відміну від попередньої групи, у таких пацієнтів відбувається нормальна секреція t-PA антигену у відповідь на венозну оклюзію або іншу стимуляцію. Однак занадто високий рівень PAI-1 нейтралізує збільшення активності t-PA, у результаті спостерігається високий рівень комплексу «t-PA/PAI-1». Приблизно 80% пацієнтів з тромбофілією потрапляють в цю групу. Високий рівень комплексу «t-PA/PAI-1» також має місце при дисфункції печінки, пов'язаної з порушеннями згортання крові.

Плазміноген

Плазміноген – неактивний попередник плазміну (основного ферменту фібринолізу). Плазміноген синтезується в печінці як одноланцюговий глікопротеїн (92 кДа). Активатори плазміногену (t - і u-PA) розщеплюють в молекулі плазміногену один зв'язок, у результаті виходить активний дволанцюговий фермент – плазмін.

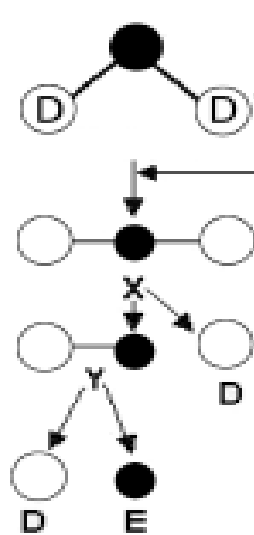
Біологічна роль плазміну – перетворення фібрину в розчинні продукти, що сприяє розсмоктуванню тромбу. Рівень плазміногену часто знижується при гострих і хронічних формах гепатиту. Причинами зниження рівня плазміногену може бути і підвищене споживання білку, і пригнічення його синтезу.



Д-дімер

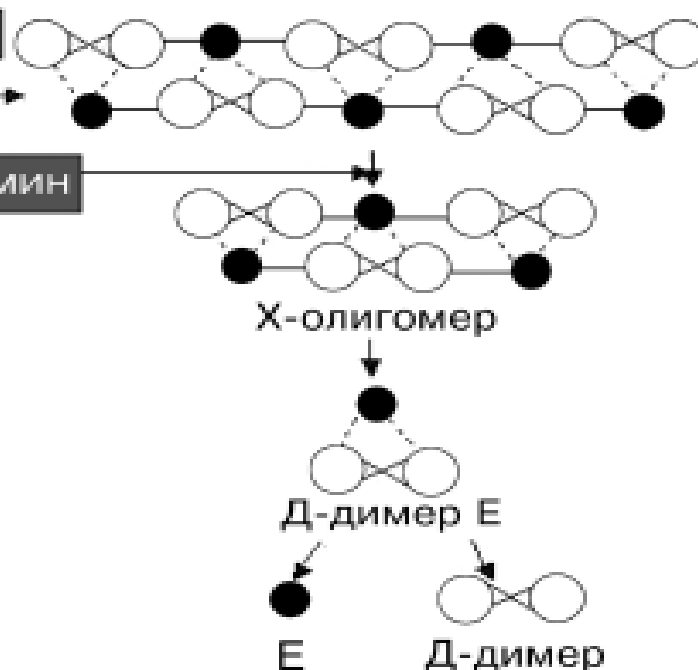
Під впливом плазміну розщеплюється як фібрин, так і фібриноген, але Д-дімер поряд з іншими продуктами утворюється тільки при ферментативному розщепленні фібрину. В даний час Д-дімер залишається найбільш специфічним маркером деградації фібринових згустків.

Лизис фибриногена



Единичные фрагменты

Лизис фибрина



Визначення рівня Д-дімеру має велику клінічну значимість для ортопедії та травматології похилого віку, акушерсько-гінекологічної практики, спортивної медицини та при тромботичних ускладненнях онкологічних хворих. В нормі вміст Д-дімеру в плазмі не має перевищувати 250 нг/мл. Підвищені рівні Д-дімеру виявляються при дисемінованій внутрішньосудинній коагуляції, тромбозі глибоких вен та емболії легенів. Але й інші обставини можуть приводити до високого рівня Д-дімеру, наприклад, вагітність, захворювання печінки, інфекції.

Оценка вероятности тромбоза

Слабая или умеренная
до 3-х баллов

Высокая
0 баллов

D-димер

отрицательный

положительный

**инструментальное
обследование**

нет тромбоза

тромбоз

нет лечения

лечение