

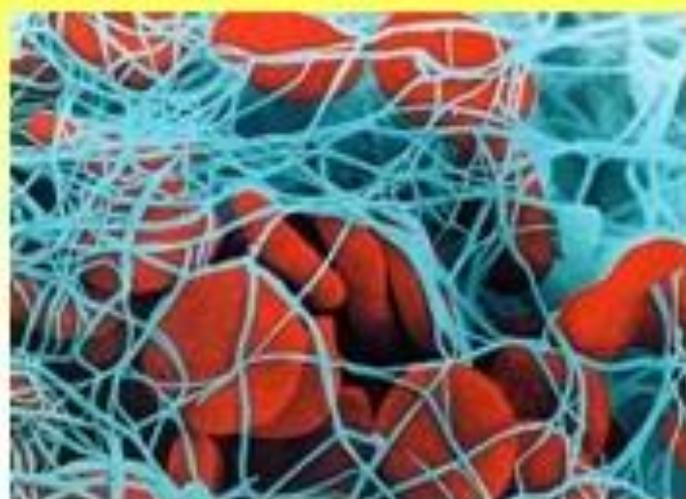


СВЕРТЫВАНИЕ КРОВИ

д.х.н. Е.В. Кудряшова
профессор кафедры химической
энзимологии Химического факультета МГУ



Свертывание крови



Свертывание крови предохраняет организм от потери крови при ранениях. В свертывании крови участвуют различные вещества, находящиеся в сосудах и в окружающих тканях. Особо важную роль играют кровяные пластинки *тромбоциты* и *ионы кальция*.

При ранении кровь выходит из сосуда.

На первой стадии у места повреждения сосуда накапливаются и разрушаются *тромбоциты*. Из них выводится в плазму особый фермент – *тромбопластин*.

На второй стадии тромбопластин воздействует на белок плазмы *протромбин* и последний превращается в активный *тромбин*.

На третьей стадии тромбин действует на растворимый в плазме белок *фибриноген*, который превращается в нерастворимый белок *фибрин*. В сети фибрина застревают эритроциты, лейкоциты и тромбоциты, образуя сгусток — *тромб*.

Система гемостаза –обеспечивает, с одной стороны, сохранение жидкого состояния крови, а с другой – предупреждение и остановка кровотечений путем поддержания целостности стенок кровеносных сосудов и быстрого тромбирования при повреждениях.

3 этапа В остановке кровотечения.

1 - сокращение кровеносного сосуда.

2 - к месту повреждения прикрепляются тромбоциты, адгезия и агрегация, образуют «белый тромб» - непрочный

3-фибриноген превращается в нерастворимый белок фибрин, который откладывается между тромбоцитами, и формируется прочный фибриновый тромб. Такой тромб содержит эритроциты и называется красным тромбом.

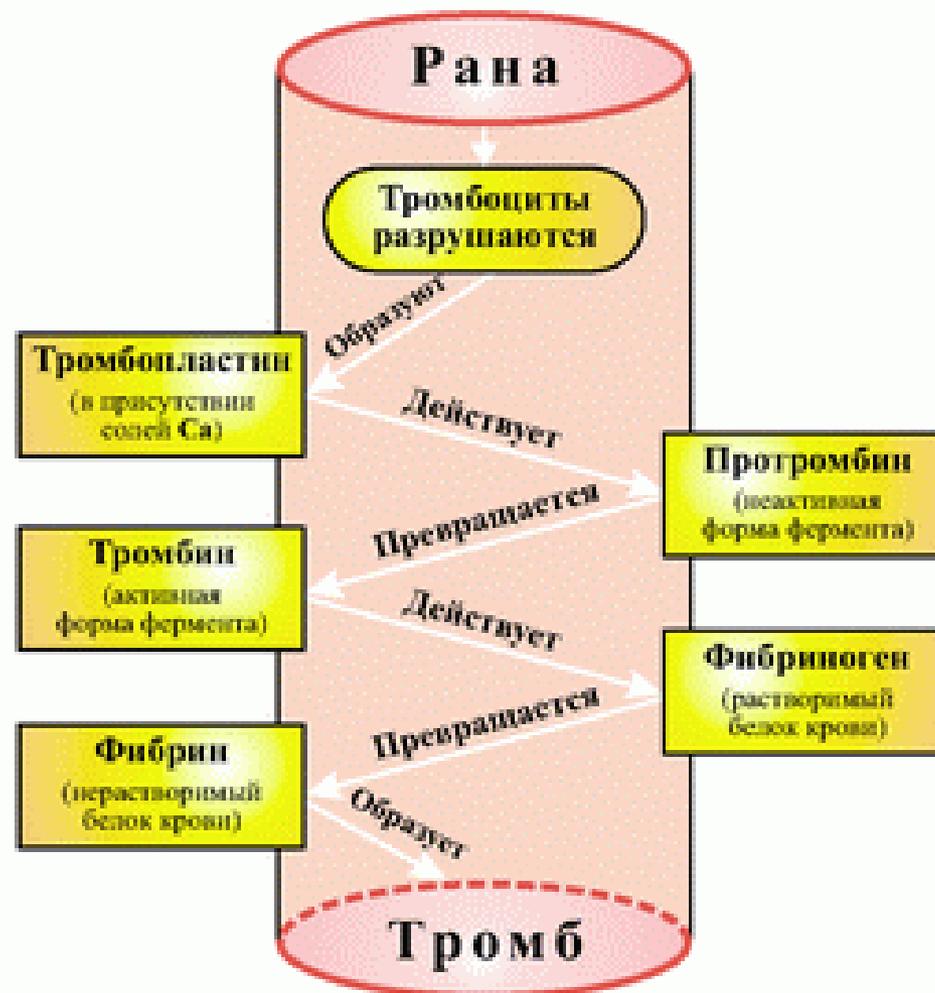
Роль тромбоцитов в гемостазе

1. Тромбоциты прилипают к повреждённой поверхности стенки сосуда (адгезия)
2. и друг к другу (агрегация)
3. связываются с фибрином, образуют тромб
4. секретируют в месте повреждения сосуда гемостатические факторы



СВЕРТЫВАНИЕ КРОВИ

Свертывание крови - защитная реакция организма животных и человека, предотвращающая потерю крови при нарушении целостности кровеносных сосудов.

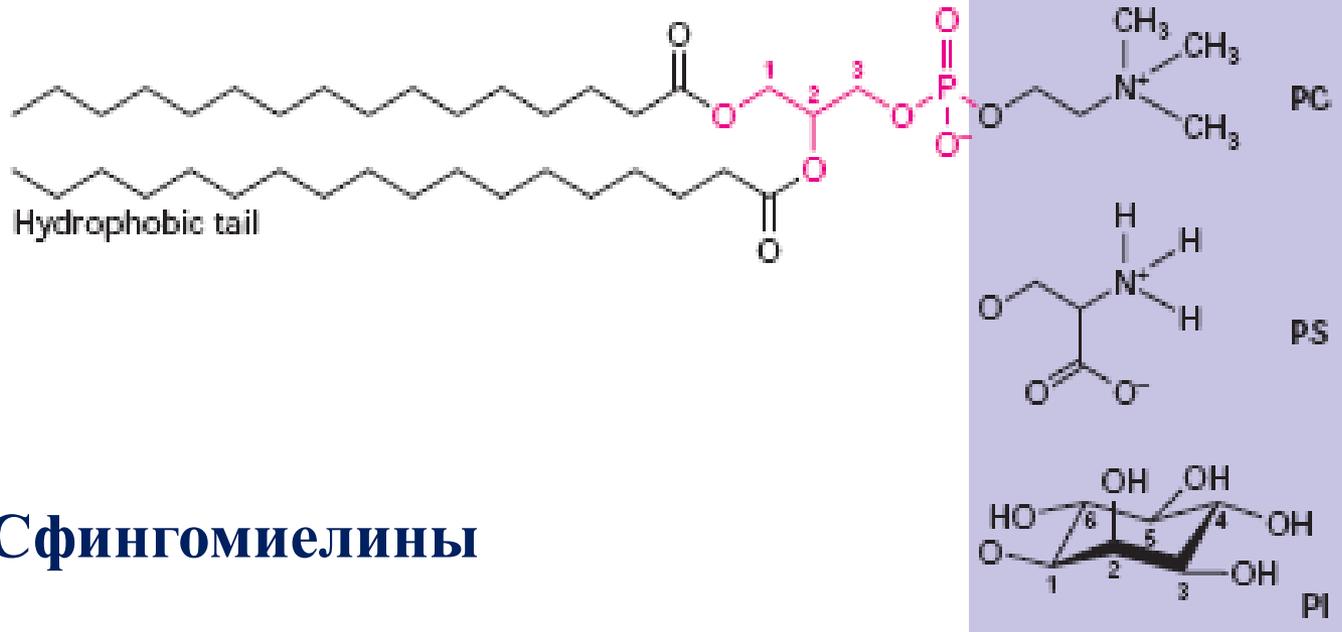


Факторы свертывания крови

- » Фактор I — фибриноген
- » Фактор II — протромбин (профермент) Протеаза, превращающая фибриноген в фибрин и активирующая факторы V, VII, VIII, XIII, C
- » Фактор III — тканевой тромбопластин Белок-активатор мембранного комплекса VIIa-ТФ-Ca²⁺
- » Фактор IV — кальций (Ca²⁺-фактор)
- » Фактор V — проакцелерин (активатор, кофактор)
- » Фактор VII — сывороточный проконвертин (профермент)
- » Фактор VIII — антигемофильный глобулин A тромбопластиноген, протромбокиназа (активатор)
- » Фактор IX — антигемофильный глобулин B (фактор Кристмаса, профермент)
- » Фактор X — фактор Стьюарта (профермент)
- » Фактор XI — плазменный предшественник тромбопластина
- » Фактор XII — фактор Хагемана
- » Фактор XIII — фибринстабилизирующий фактор плазменная транслугтаминаза



Фосфолипиды

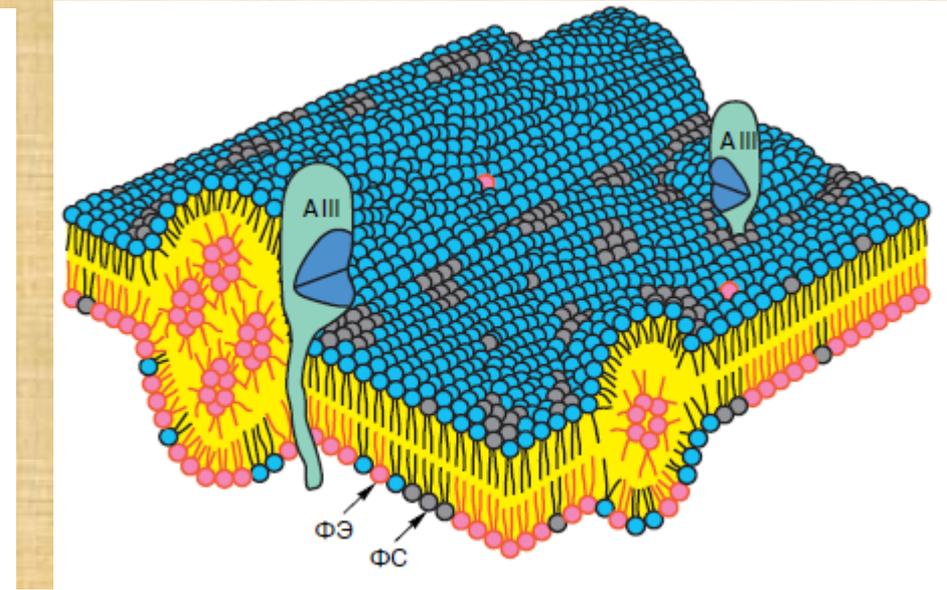
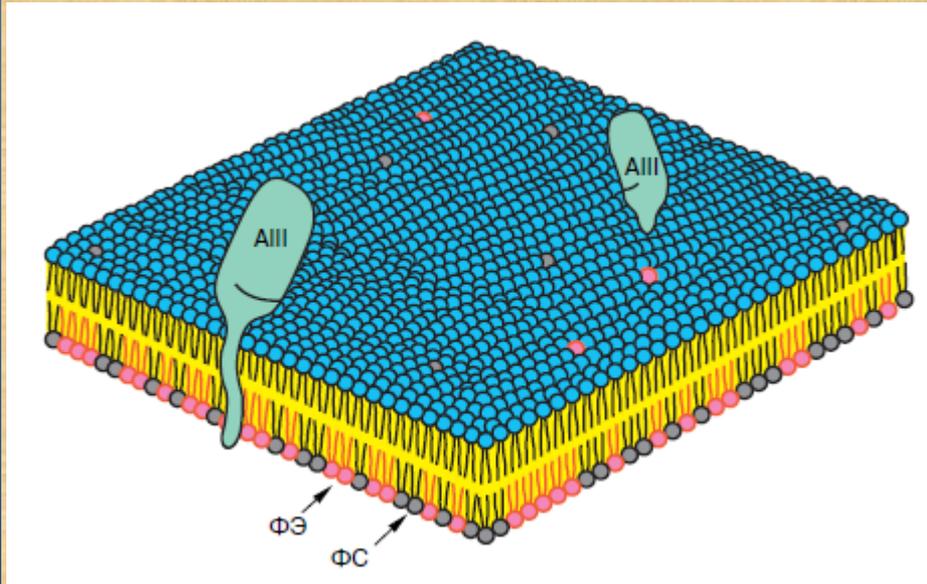


Сфингомиелины

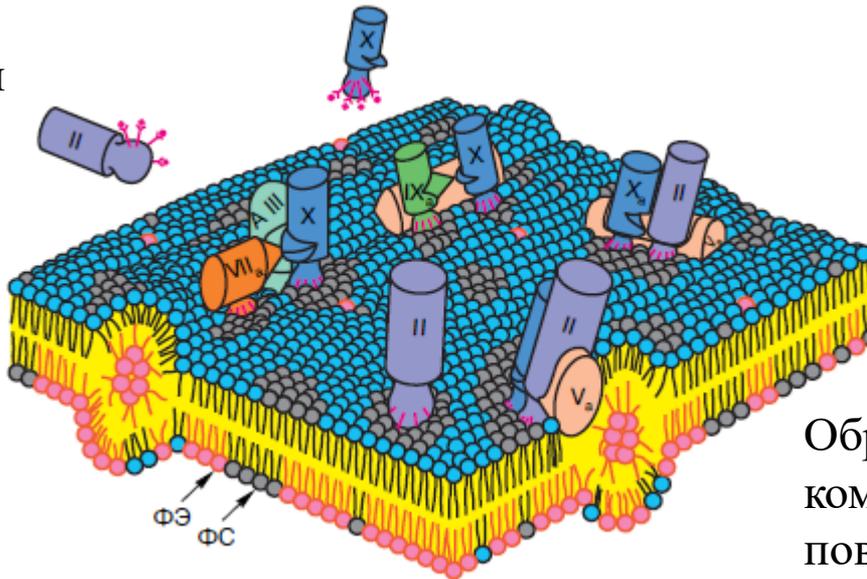
Основа клеточных мембран;
образуют поверхностный гидрофильный слой ЛП крови
Компонент легочного сурфактанта: выстилают поверхность альвеол,
предотвращая слипание стенок во время выдоха.



Ферментные комплексы прокоагулянтного пути образуются при наличии на внешней поверхности плазматической мембраны тканевого фактора и отрицательно заряженных фосфолипидов.



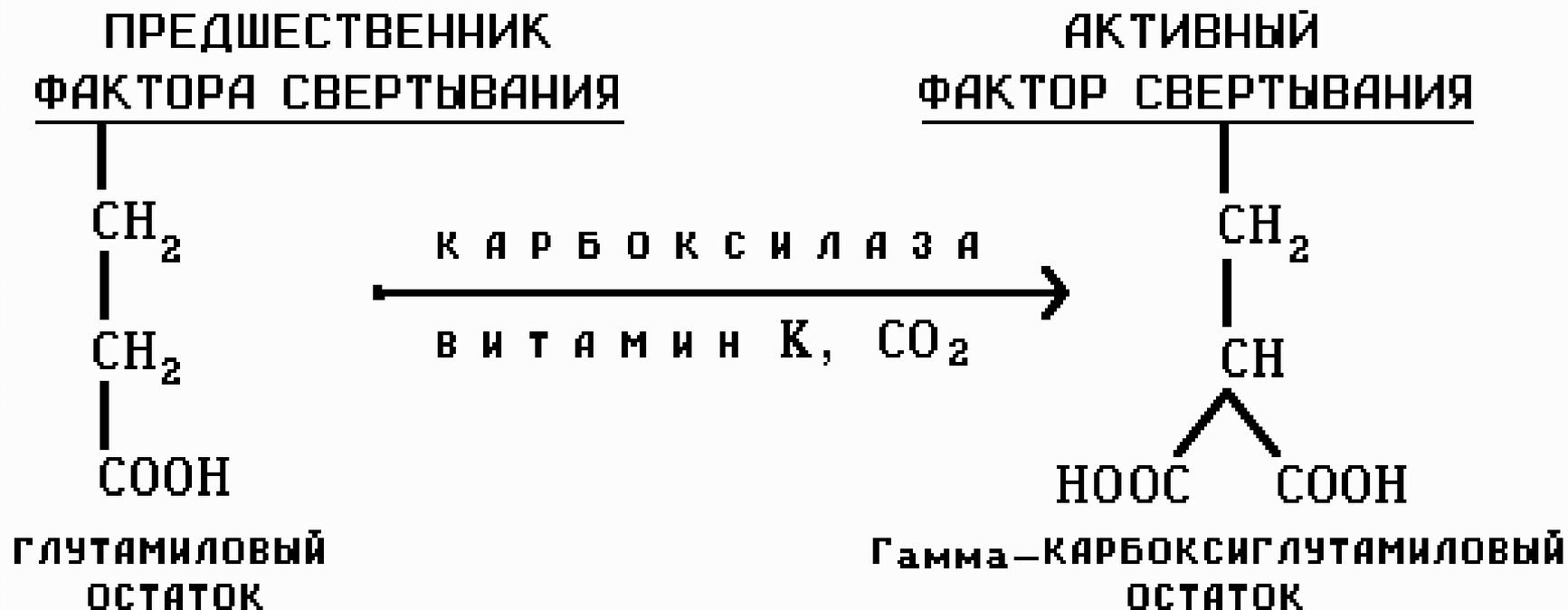
Ассиметричная тромбогенная клеточная мембрана. ФХ и СМ на внешней поверхности



Образование гексагональных мезофаз ФЭ и кластеров ФС, взаимодействие с Ca^{2+} ($10^{-3}M$) инициирует свертывание крови

Образование протромбиназного комплекса на тромбогенной поверхности мембраны

Витамин "К"-зависимые факторы: II, VII, IX, X.

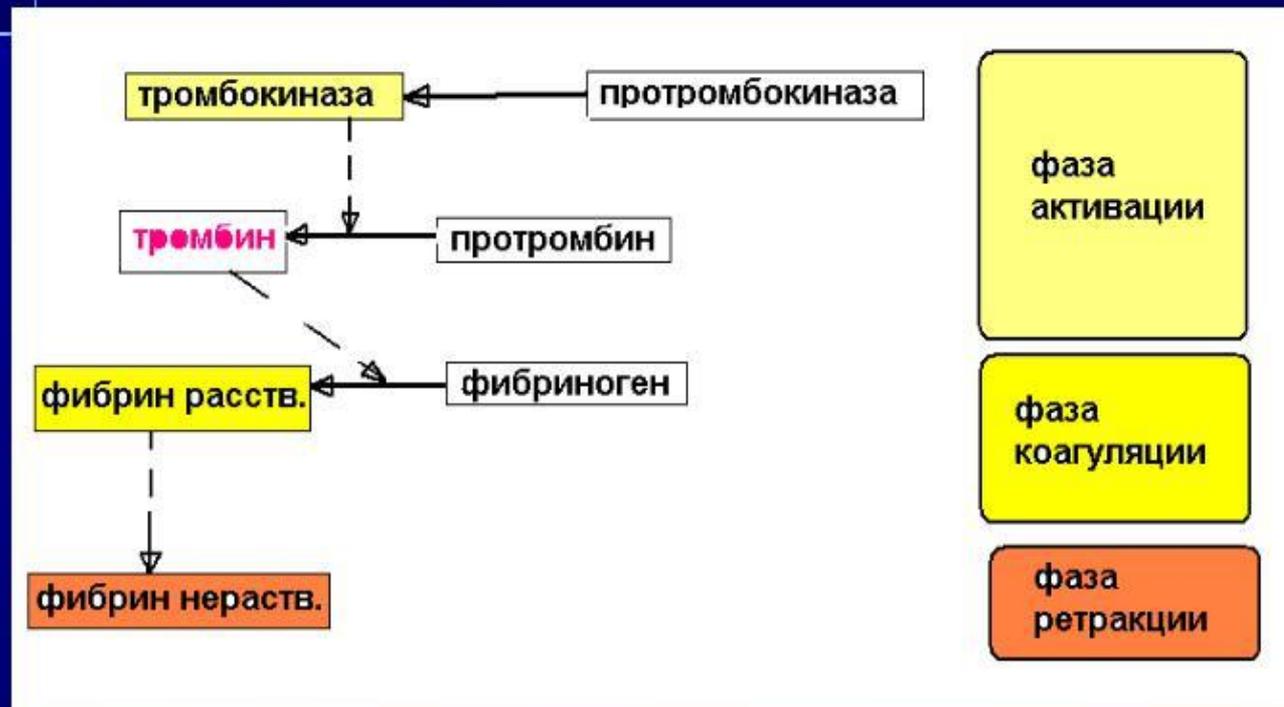


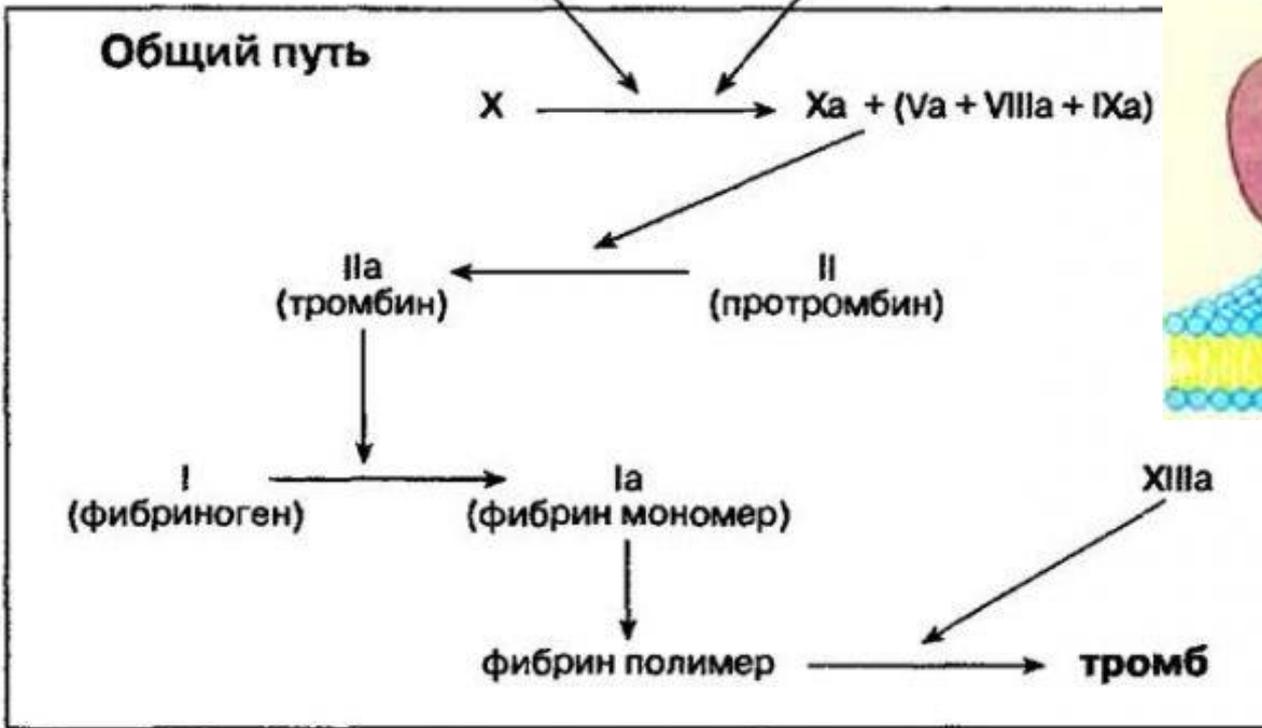
Остатки γ -карбоксиглутаминовой кислоты в VIIa, IXa и Xa обеспечивают взаимодействие ферментов через Ca^{2+} с отрицательно заряженными фосфолипидами клеточных мембран.



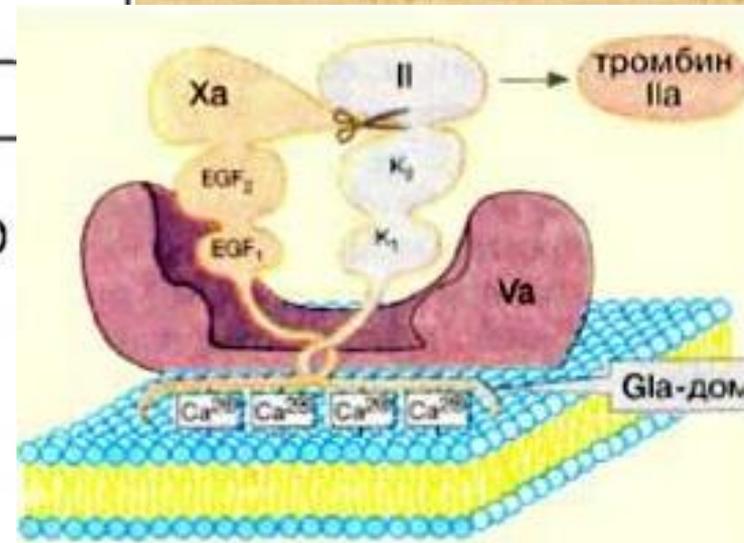
Свертывание крови

Классическая схема свертывания крови (по Моравицу)





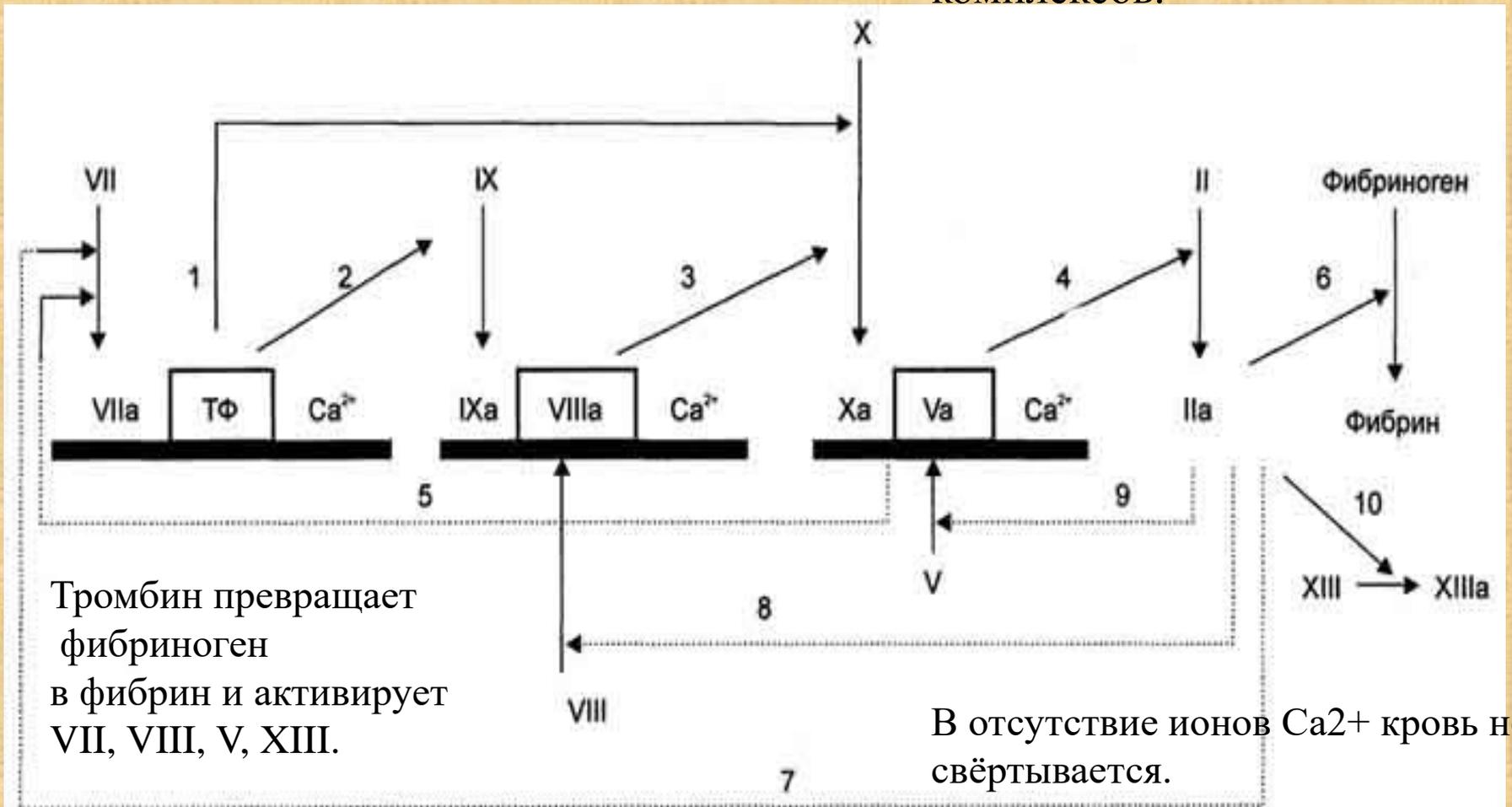
При повреждении сосуда "включается" каскадный механизм активации ферментов с образованием связанных с ФЛ мембраной ферментного комплекса: протромбиназный комплекс



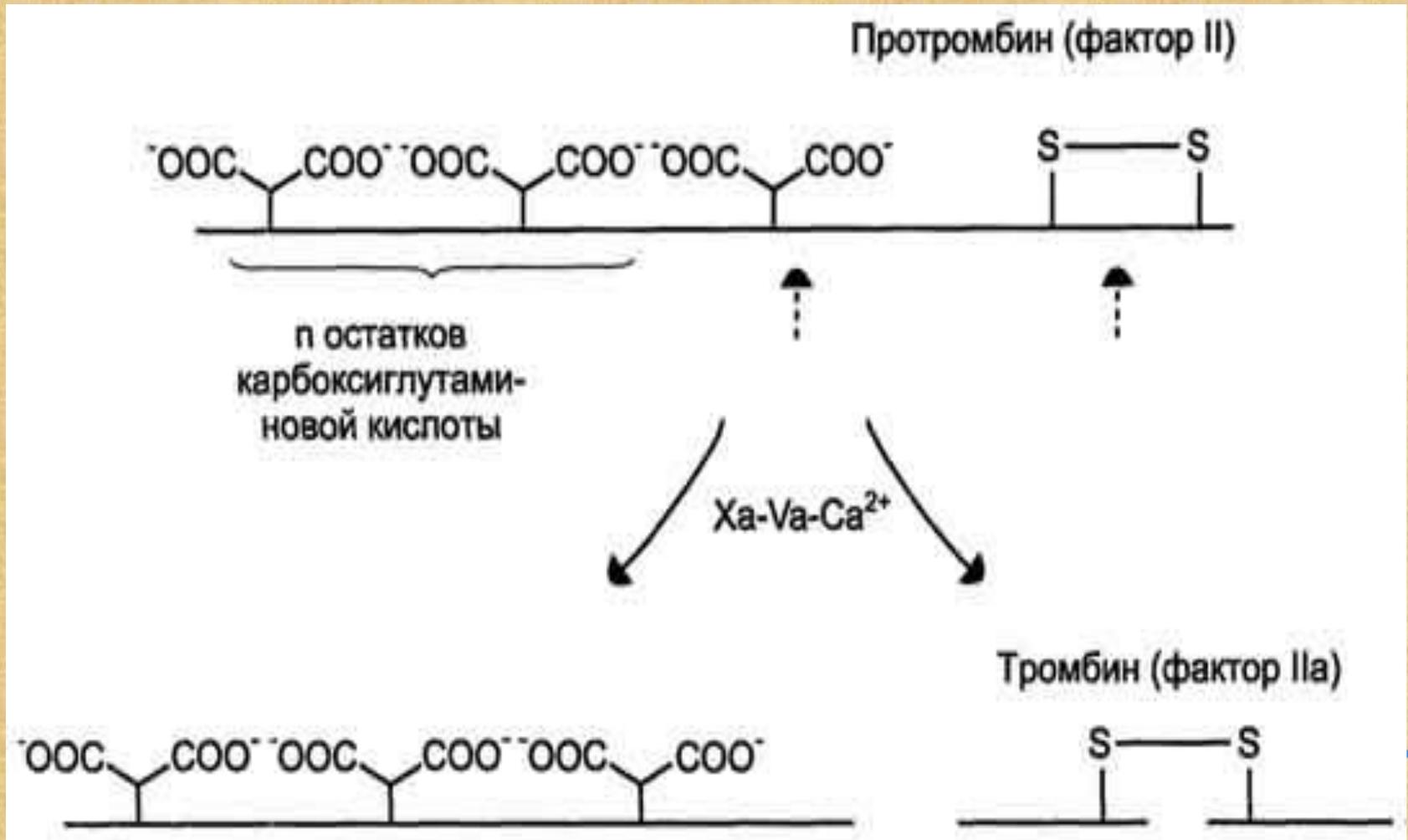
В активации ферментов каскада - три механизма:

1. частичный протеолиз,
2. взаимодействие с белками-активаторами и
3. взаимодействие с модифицированными клеточными мембранами.

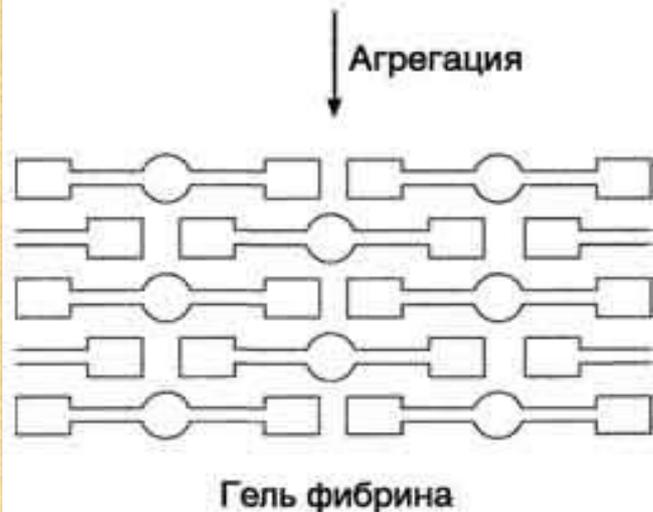
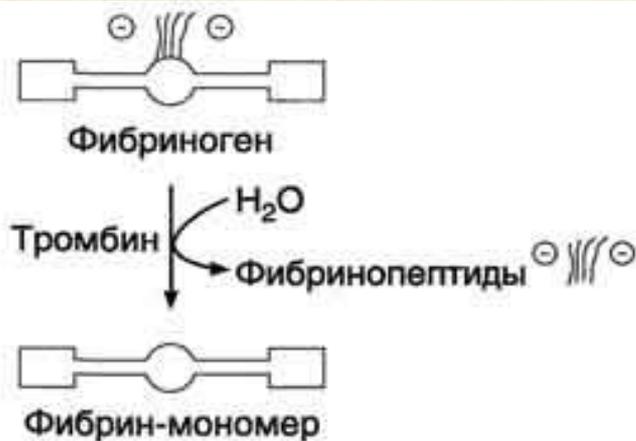
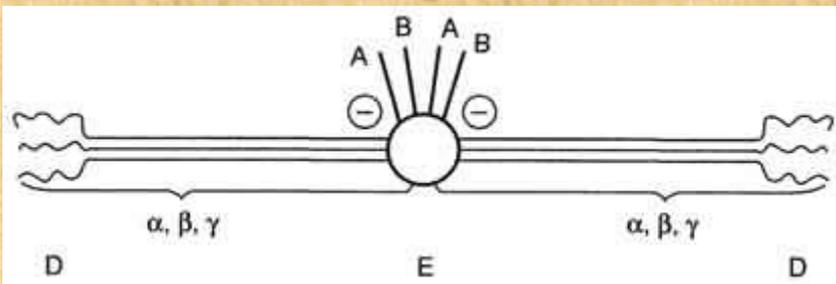
При повреждении сосуда – каскадная активация ферментов с последовательным образованием трёх связанных с ФЛ мембраны ферментных комплексов.



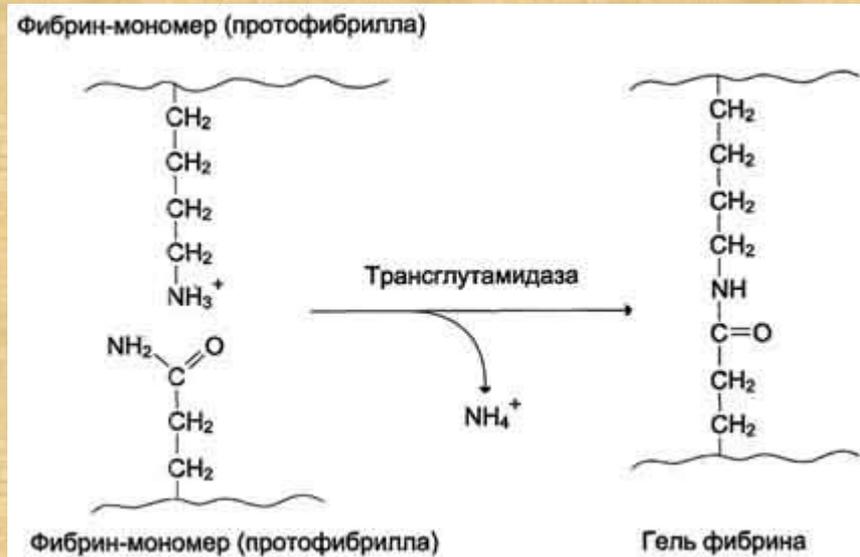
Протеолитическая активация протромбина фактором Ха протромбиназного комплекса.



Образование геля фибрина



Коагуляционный фактор XIII
Плазменная трансглутаминаза
стабилизирует фибриновые тромбы;
Катализирует образование
ковалентных связей между
аминогруппами лизина и
карбоксамидными группами
глутамина в фибрине



Контакт с чужеродной
поверхностью



$\Phi XII \rightarrow \Phi XIIa$

$\Phi XIIa$

ΦXI

ΦXIa

ΦIX

Фосфолипиды

ΦIXa Ca^{2+} $\Phi VIIIa$

$\Phi VIII$

ΦX

Фосфолипиды

ΦXa Ca^{2+} ΦVa

ΦV

Фосфолипиды

Ca^{2+} Протромбин

Тромбин

$\Phi XIIIa$

$\Phi XIII$

Фибриноген

Растворимый
фибрин

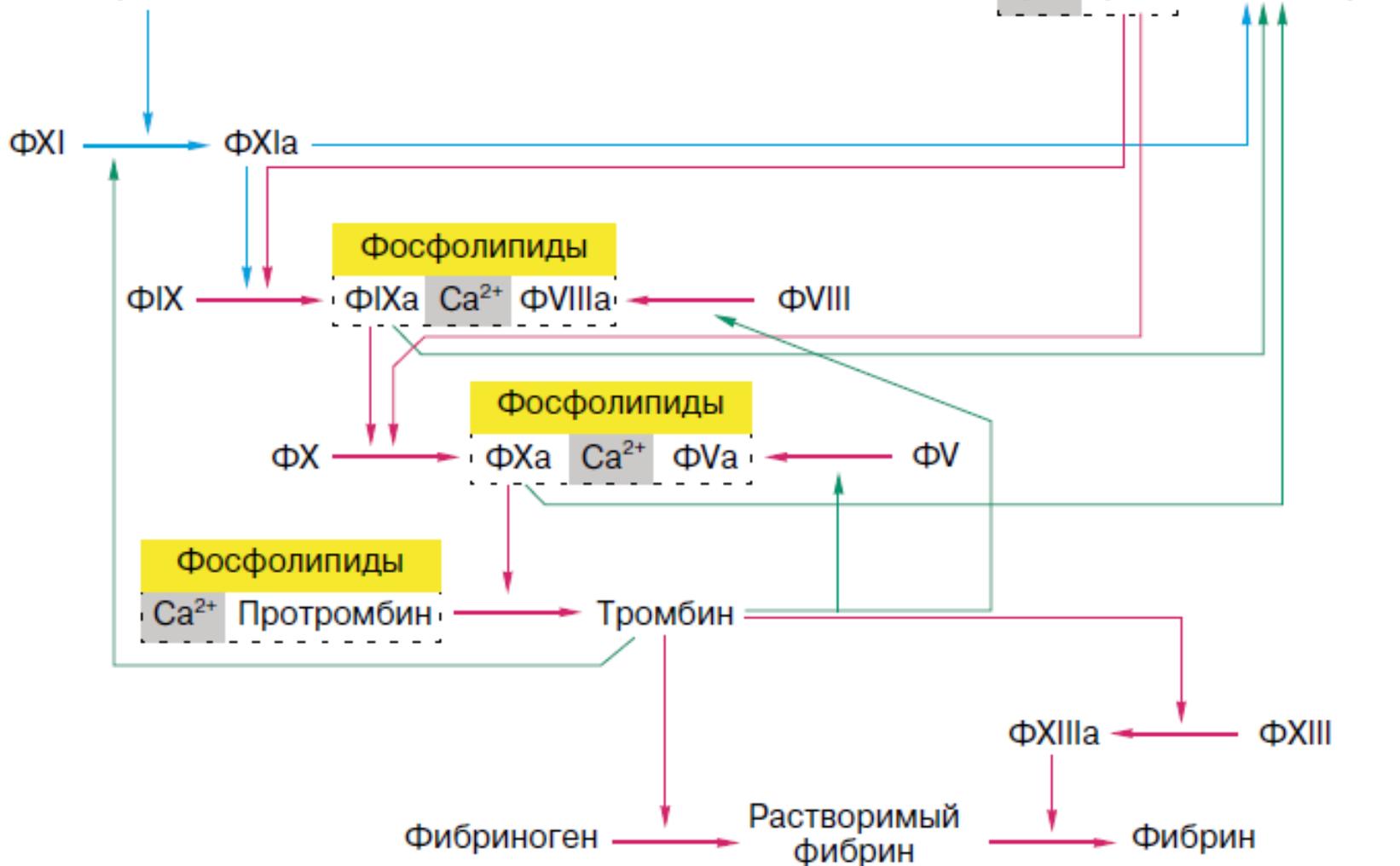
Фибрин

Повреждение тканей

Фосфолипиды +
тканевой фактор

Ca^{2+} $\Phi VIIa$

ΦVII

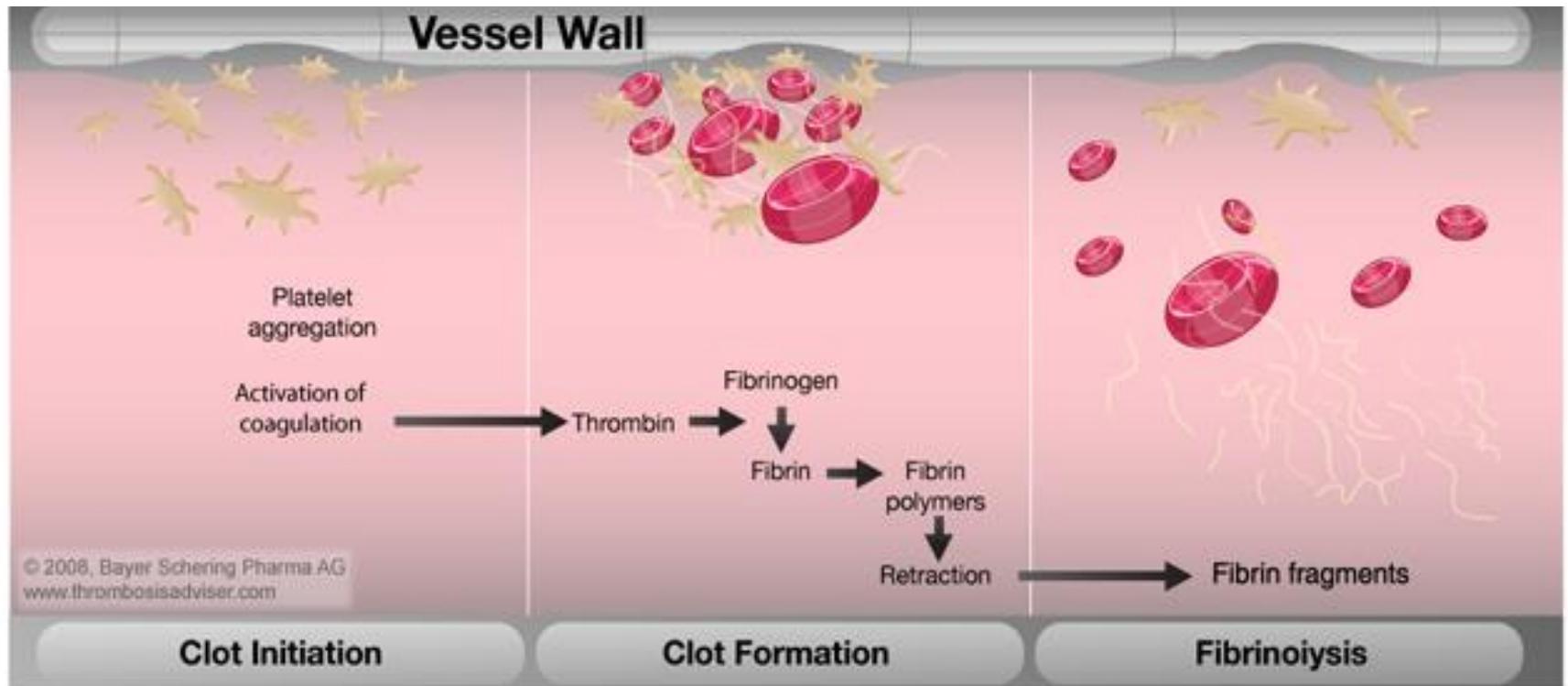


Гемостаз: тромбообразование и фибринолиз

каскад протеолитических процессов

тромбоциты, тромбин, фибрин, плазмин

Механизмы аутокатализа действуют интенсивно, но кратковременно
Кровь здорового человека *in vitro* свёртывается за 5-10 мин.



**свертывание крови ингибируется
антикоагулянтами и продуктами свертывания**

Фибринолиз – ферментативное расщепление фибрина - 7-10 сут

Система Ф. состоит из 4 основных компонентов:

1. **плазминоген** связанный с фибрином (под действием ферментативных активаторов: плазменный и тканевой активаторы, урокиназа) превращается в **плазмин**
2. **плазмин**
3. **активаторы плазминогена** (связаного с фибрином)
4. **ингибиторы фибринолизина** (антиплазмин ингибитор протеаз).



» ФИБРИНОЛИЗ

ВНУТРЕННИЙ ПУТЬ



ВНЕШНИЙ ПУТЬ



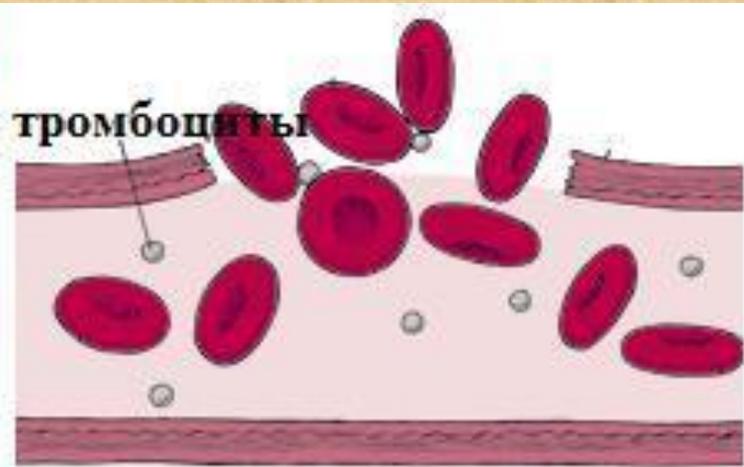
Нарушение гемостаза

Протромбиновый индекс (ПТИ) – активность свертывающей системы крови: соотношение времени свертывания контрольной и исследуемой плазмы крови.

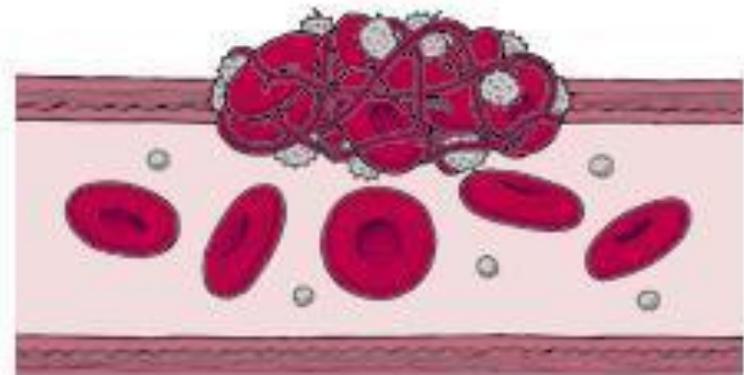


Причины повышения ПТИ:

- дефицит факторов свертывания,
- поражения печени,
- дефицит витамина К,
- лечение антикоагулянтами или гепарином.



СВЕРТЫВАЕМОСТЬ КРОВИ



Гемофилия

наследственное
заболевание, связанное с
нарушением процесса
свертывания крови
**нарушение синтеза
факторов VII, VIII и IX
активаторы
протромбиназы**



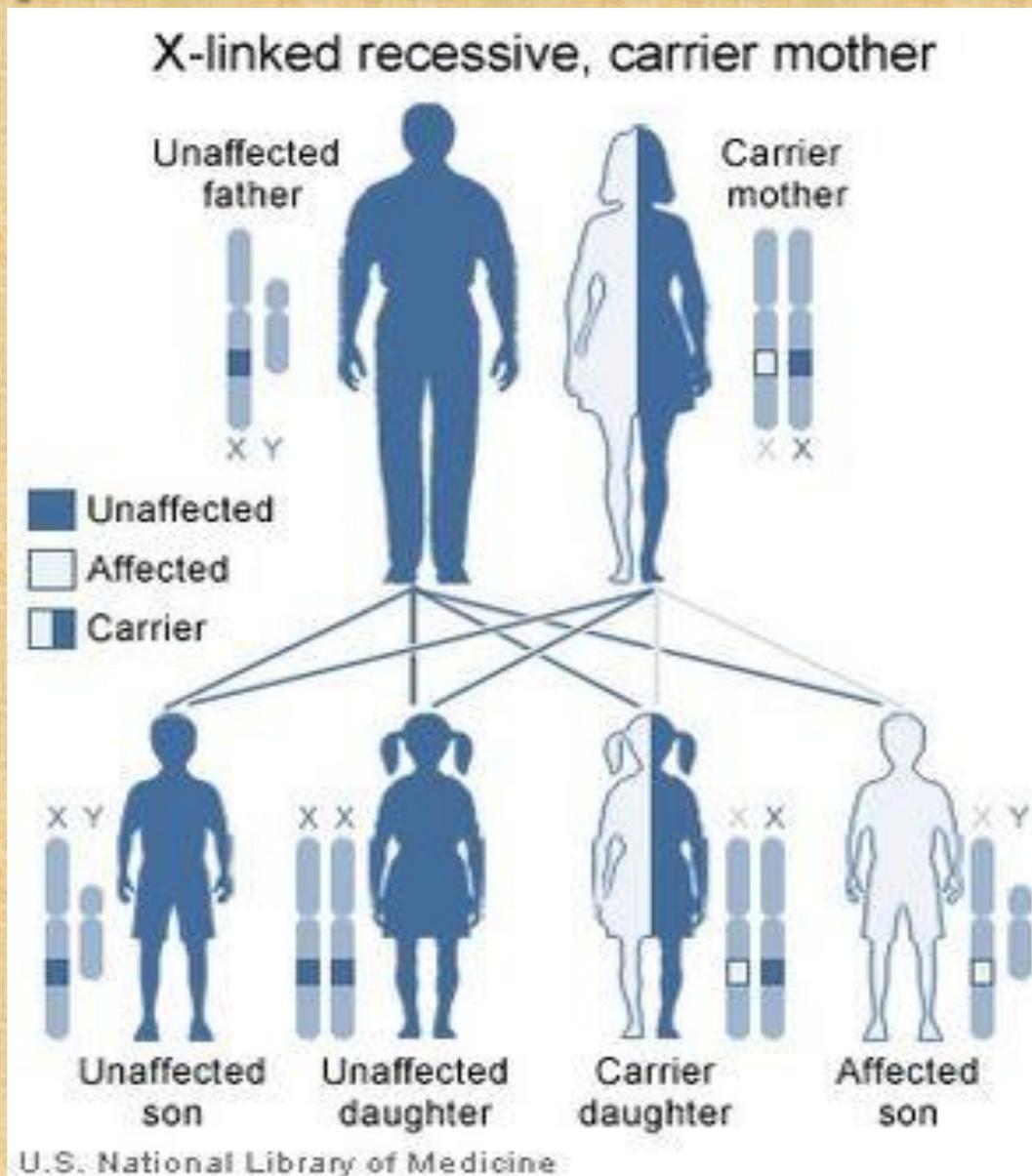
- » Королева Виктория (1819-1901) была носителем гена гемофилии
- » Царевич Алексей - наследник Российского престола

«Викторианская болезнь» и «Царская болезнь».



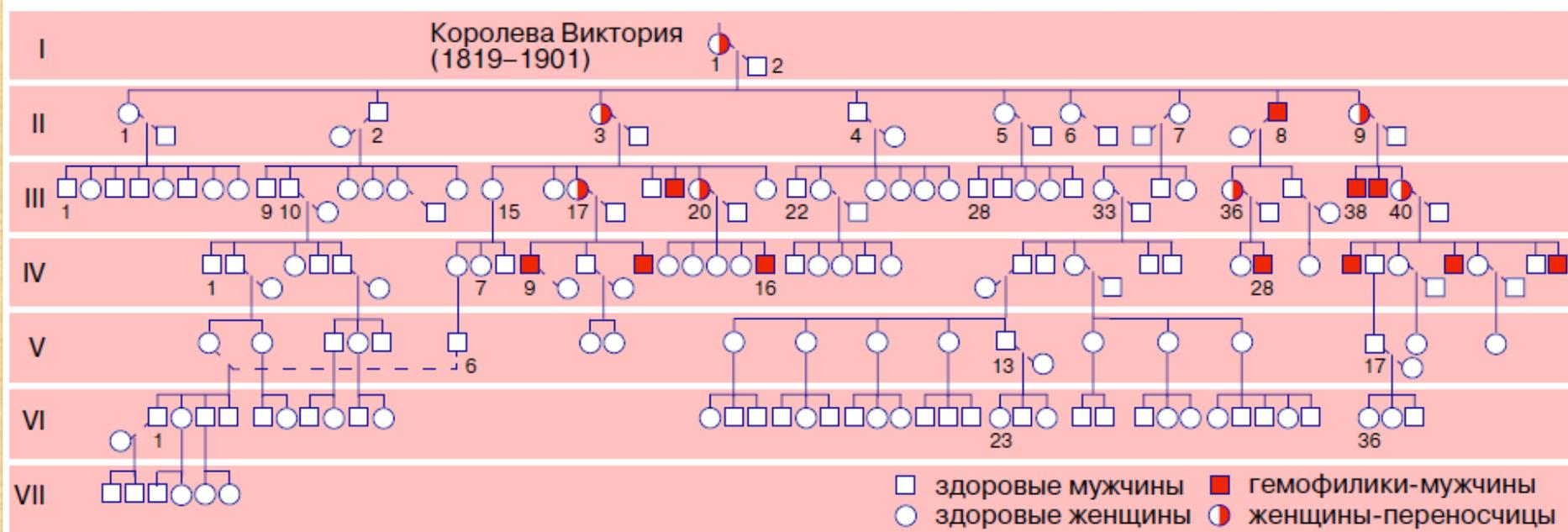
Гемофилия – наследственное заболевание «сцепленное с полом»

Гемофилия появляется из-за изменения одного гена в X-хромосоме. Дефект гена фактора VIII проявляется как рецессивный признак, поэтому гемофилией болеют только мужчины.



Родословная Царевича Алексея по материнской линии

Александра Федоровна
русская императрица



Коррекция системы свертывания крови

Гемофилия

заболевание сопровождается подкожными, внутримышечными и внутрисуставными кровоизлияниями - опасны для жизни

Факторы свертывания крови VII, VIII и IX

Фактор VII протромбиноген

Фактор VIII — антигемофильный глобулин А

Фактор IX — антигемофильный глобулин В



СИНДРОМ СКРЫТОГО ВНУТРЕННЕГО СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ ДВС-синдром (1961г)

Нарушение свертывающей системы крови, возникающее в результате чрезмерного образования факторов свертывания, которые вызывают появление тромбов

Нарушении структуры клеточной мембраны – активация факторов свертывания крови



ГЕМОСТАЗ

СИСТЕМА СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ

- » **Предохраняет организм от потери крови**
- » **Снабжение клеток питательными веществами и кислородом**
- » **Удаление конечных продуктов метаболизма**

НОРМА

ГЕМОФИЛИЯ

**Нарушение свертывания
крови**

ТРОМБОЭМБОЛИЯ

**Образование сгустка крови
внутри сосуда – нарушение
кровообращения**



Противосвертывающая система крови- **ограничивает тромбообразование**

Во времени:

Антикоагулянтная фаза -
ограничивает время существования
активных факторов в крови;
инициируется самим тромбином:
Каскад реакций - ингибирование
факторов VIIIa и Va.

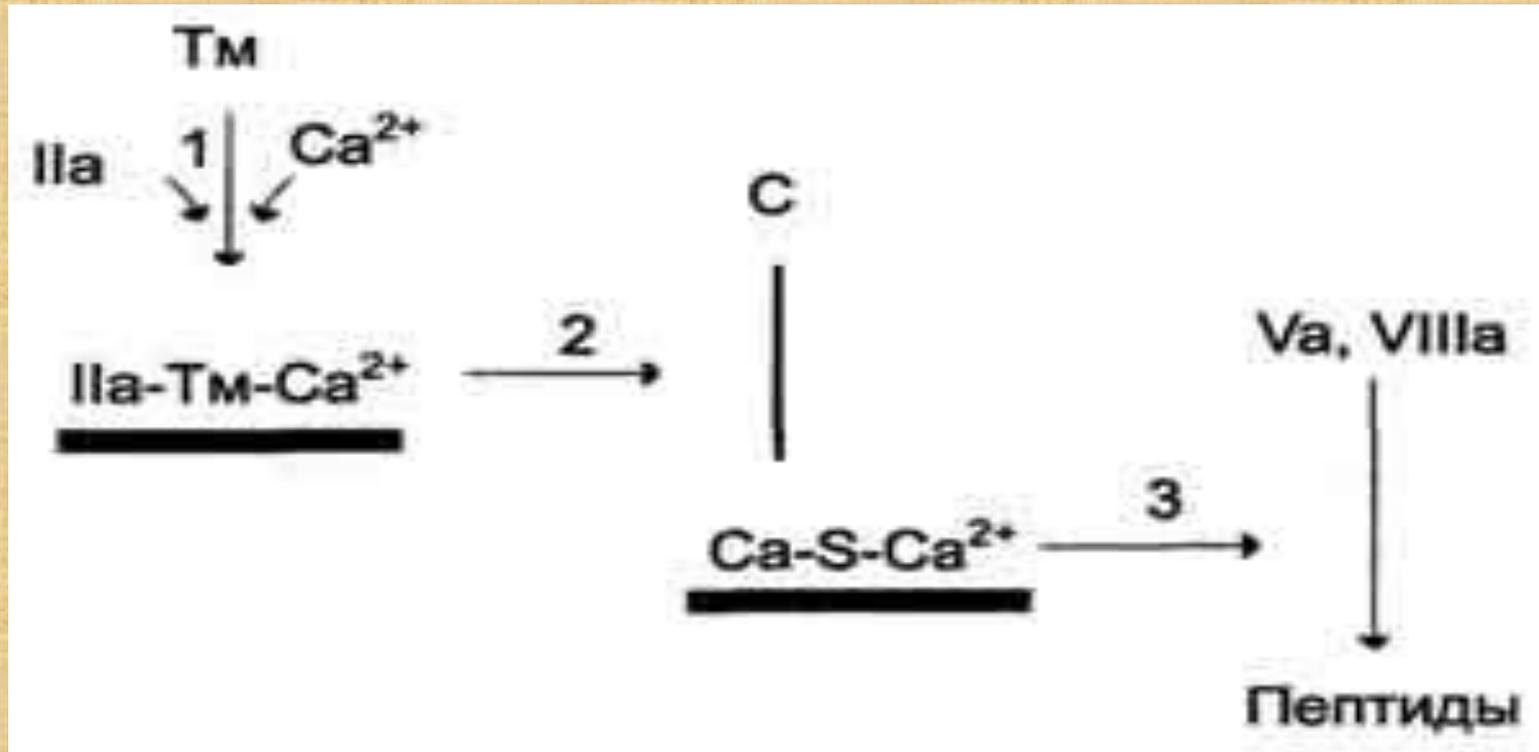
Свертывающий потенциал 1 мл крови - свертывания всего фибриногена в организме в течение 10 секунд.

В пространстве :

Физиологические ингибиторы свёртывания крови

- сохраняют кровь в жидком состоянии;
- ограничивают распространение тромба местом повреждения сосуда

Антикоагулянтная фаза (ограничение во времени).



Тм - тромбомодулин; С - протеин С; Са - активный протеин С; протеин S; мембранно-связанный комплекс. 1 - тромбин образует мембранный комплекс с белком тромбомодулином (Тм); 2 - тромбин в составе мембранного комплекса IIa-Тм-Са²⁺ активирует протеин С; 3 - активированный протеин С в составе ферментного мембранного комплекса Са-S-Са²⁺ гидролизует пептидные связи в факторах Va и VIIIa и превращает их в неактивные пептиды.

Антикоагулянтная (противосвертывающая) система

Физиологическая роль - в поддержании крови в жидком состоянии, и ограничении тромбообразования

Поддержание крови в жидком состоянии обеспечивается благодаря

- движению крови (снижение концентрации реагентов)**
- адсорбции эндотелием коагуляционных факторов**
- действию физиологических антикоагулянтов**



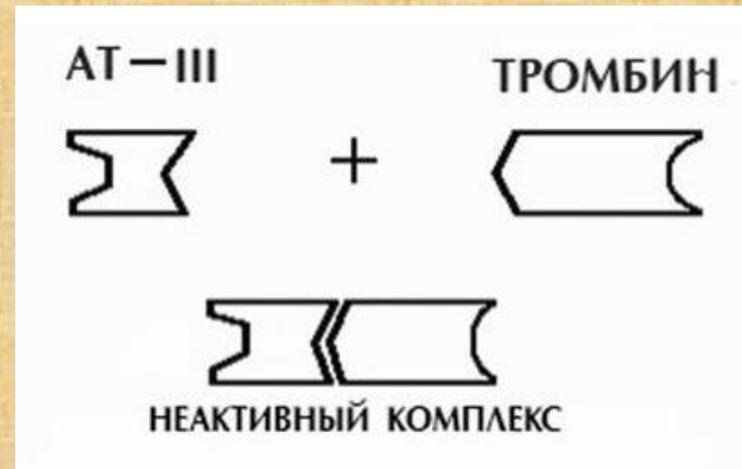
Физиологические ингибиторы свёртывания крови

ограничивают тромбообразование в пространстве

Антитромбин III – основной ингибитор свёртывания крови; (90% антикоагулянтной активности крови)

Он инактивирует сериновые протеазы крови: **тромбин, факторы IXa, Xa, XIIa**

Антитромбин не влияет на факторы в составе мембранных комплексов,
а устраняет ферменты в крови,
препятствуют тромбообразованию **в кровотоке.**

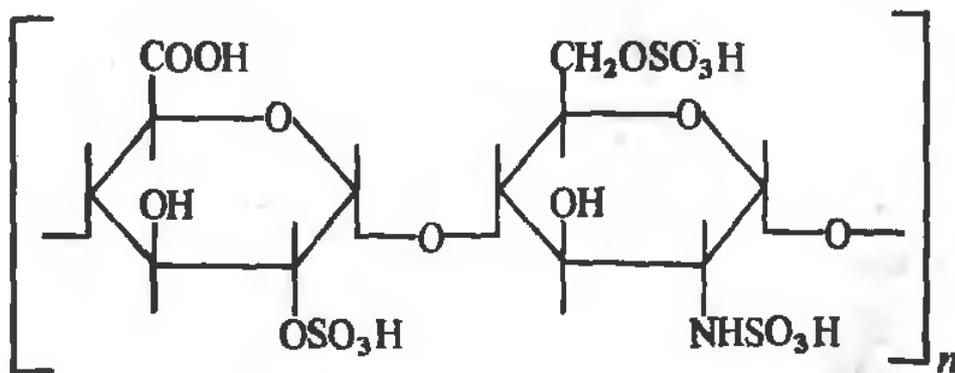


При наследственном дефиците антитромбина - тромбозы и эмболии сосудов, опасные для жизни.

Антикоагулянты (существующие независимо и образующиеся при протеолизе)

Антитромбин – инактивирует **тромбин** и другие ферментные факторы свертывания

Активируется **Гепарином** - ограничивает все фазы гемокоагуляции



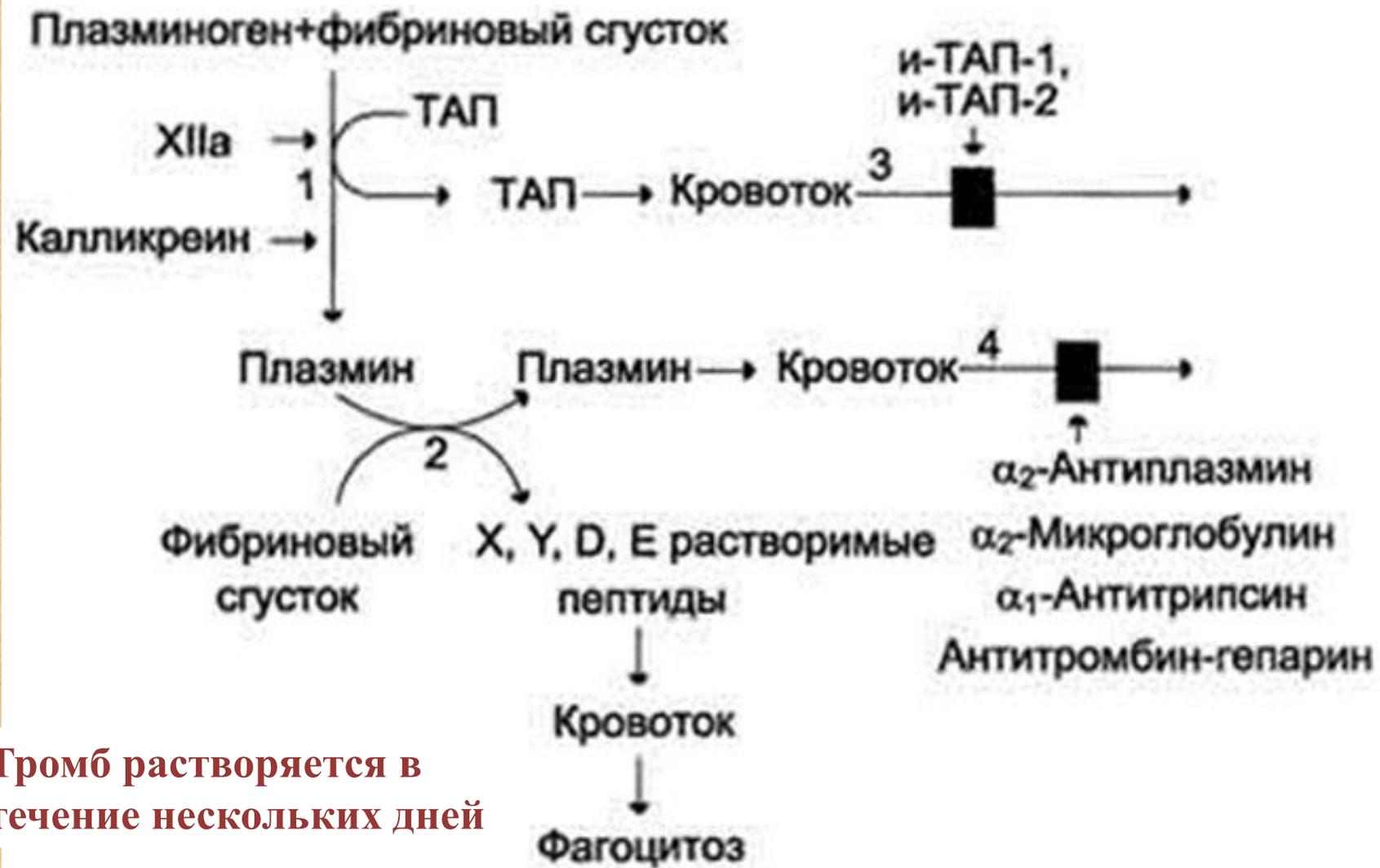
компонент
противосвёртывающей
системы крови –
лечение тромбозов



ФИБРИНОЛИЗ - ферментативное расщепление волокон фибрина с образованием растворимых пептидов

ПЛАЗМИН – сериновая протеаза

Сорбция пламиногена и его активаторов на фибрине



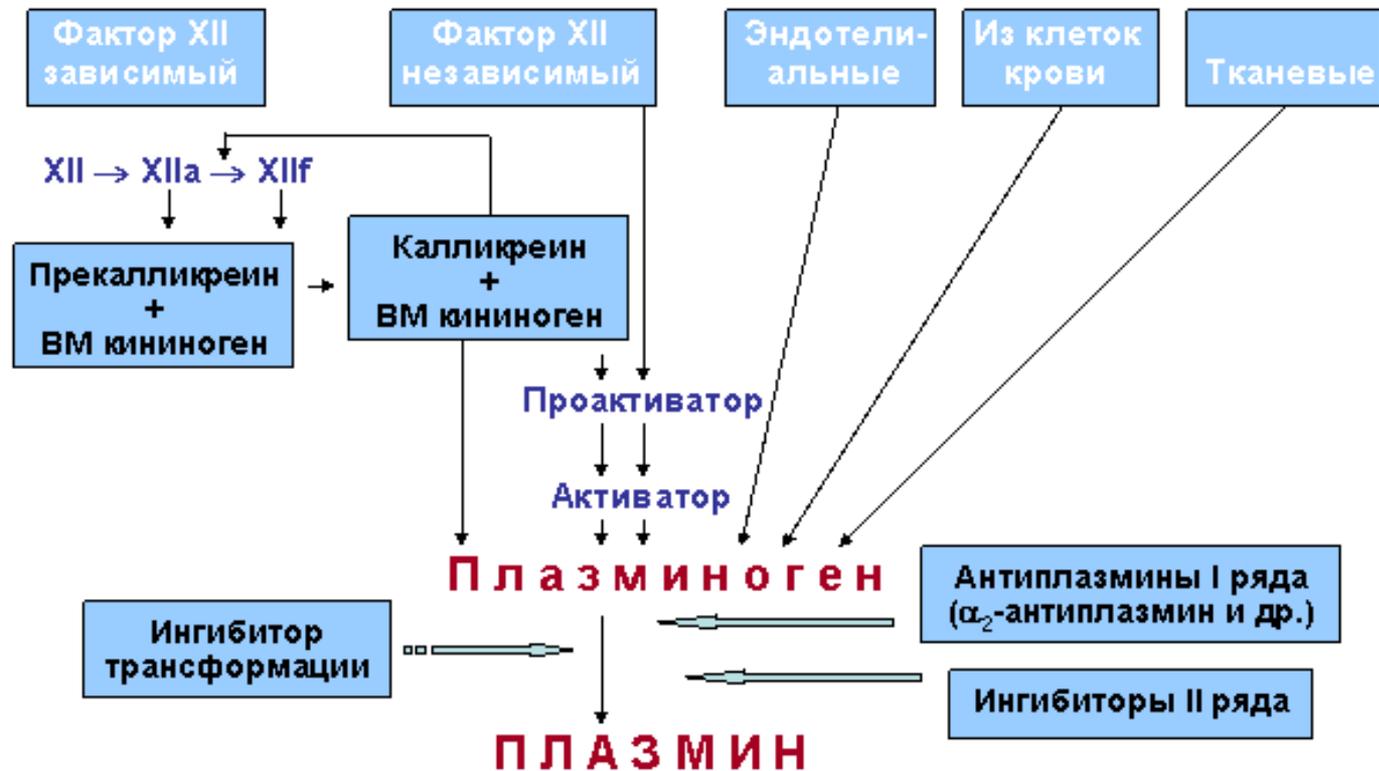
Тромб растворяется в течение нескольких дней

Схема фибринолиза

Внутренний механизм

Внешний механизм

Активаторы



НАРУШЕНИЕ ФИБРИНОЛИЗА

«Нить фибрина обрывает нить жизни»

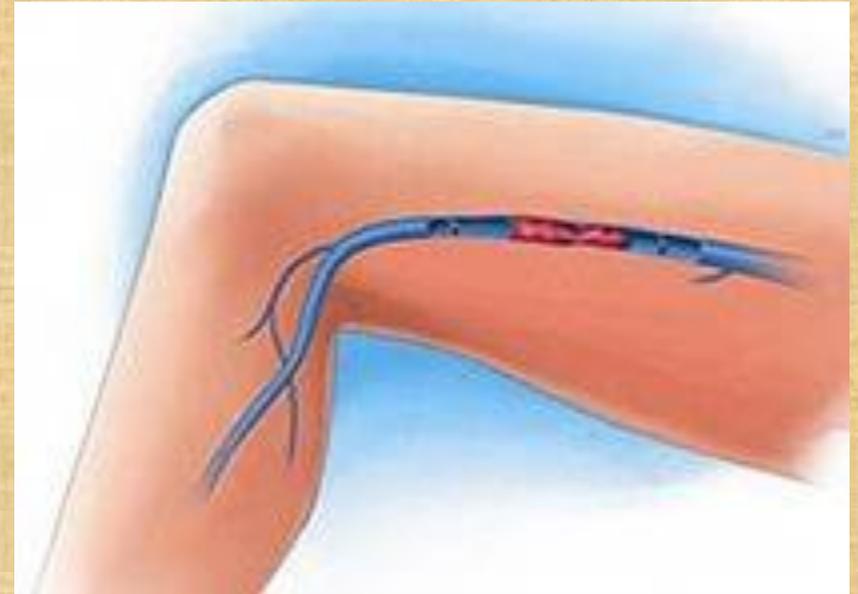
Нарушение фибринолиза:

- наследственный дефицит плазминогена или дефект его структуры
- снижение активаторов плазминогена (ТАП)
- повышение содержания в крови ингибиторов фибринолиза (и-ТАП и антиплазмина).



Снижение фибринолитической активности крови сопровождается тромбозами:

Тромбоэмболия
Тромбозы вен ,
головного мозга
эмболии легкого
периферических артерий
Инфаркт миокарда
Инсульт
Тромбофлебит



АнтиТромботическая терапия для профилактики и лечения тромбозов и эмболии

1) **Антикоагулянты** – (прямые и непрямые) препятствуют тромбообразованию; ингибиторы образования тромбина – **гепарин, антитромбин**

Непрямые – варфарин (препятствуют синтезу ФСК)

2) **Антиагреганты** – препятствуют активации и агрегации тромбоцитов (**ацетилсалициловая кислота**-ингибитор циклооксигеназы)

3) **Фибринолитики** - разрушение фибрина

Прямое фибринолитическое действие:

протеолитический фермент крови **плазмин**;
протеазы **трипсин, химотрипсин**

Активаторы превращения плазминогена в плазмин:

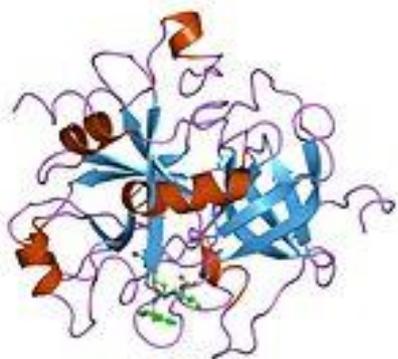
тканевой активатор плазминогена «**алтеплаза**» ;
проурокиназа, **урокиназа, стрептокиназа.**



Антикоагулянты природного происхождения

Гирудин

антитромботическое действие - **прямое необратимое ингибирование тромбина.**
Применяется **при острой коронарной недостаточности, инфаркте**



Пиявит

антикоагулянт;
содержит гирудин, трипсин,
химотрипсин, липазу и гиалуронидазу
Применяется при предтромботическом состоянии.



Антикоагулянты природного происхождения **непрямого действия**

Куркума

ярко-оранжевого цвета активный компонент популярной в Индии специи; содержит противовоспалительные соединения, **которые блокируют синтез печенью фибриногена.**

Наттокиназа

фибринолитический фермент, из сброженных соевых бобов
Натто – традиционная японская еда)

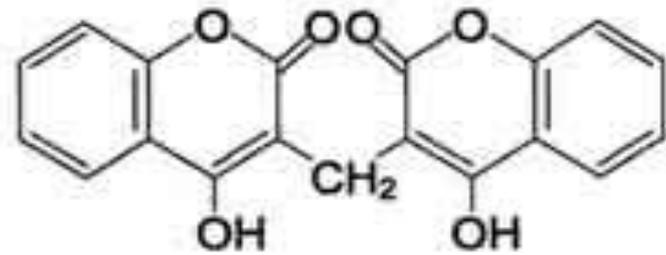


Витамин К - активатор образования кровяного сгустка (кофактор карбоксилазы)

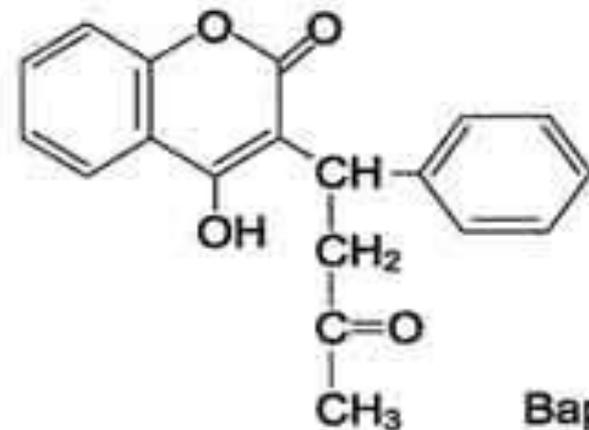
Препараты для
предупреждения тромбозов

Недостаток витамина К –
кровоточивость, подкожные и
внутренние кровоизлияния.

Структурные аналоги
витамина К **дикумарол** и
варфарин ингибируют
факторы свёртывания крови.



Дикумарол



Варфарин

АНТИАГРЕГАНТЫ

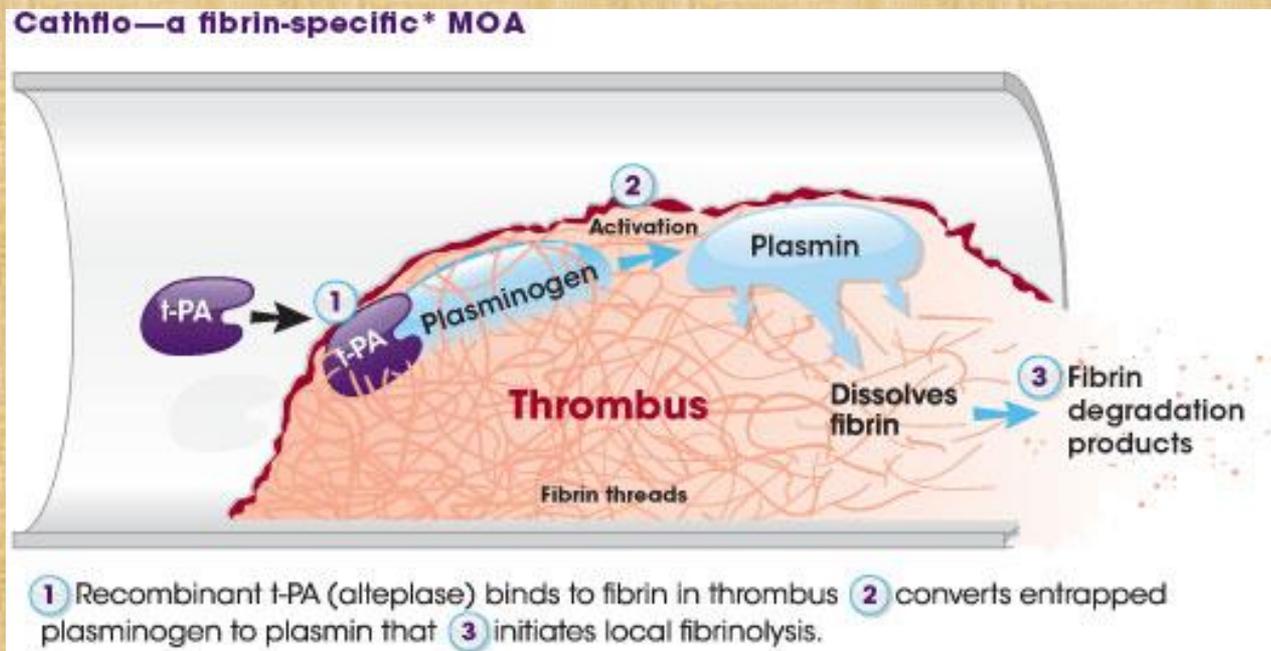
Лекарственные препараты, ингибируют агрегацию тромбоцитов – для предупреждения возникновения тромбозов.

Аспирин (ингибитор циклооксигеназы),
Никотиновая кислота (ингибитор тромбоксансинтетазы) **угнетают агрегацию тромбоцитов,**
влияя на разные этапы реализации тромбогенного сигнала.



Активаторы плазминогена

- » **Тканевой активатор плазминогена** (вырабатывается клетками эндотелия сосудов) - избирательное фибринолитическое действие **активирует только плазминоген, связанный с фибрином** и не влияют на содержание фибриногена в плазме.



В отличие от терапии антикоагулянтами, лечение ферментами не сопряжено с опасностью кровотечения

Препарат Альтеплаза

Тканевой активатор плазминогена



Активаторы плазминогена

- » Обнаружено: фильтраты культур **гемолитических стрептококков** растворяют сгустки свернувшейся крови.

Активный фактор – **стрептокиназа**- активатор плазминогена.

Недостаток: **антигенность стрептокиназы**

- » **Урокиназа** (образуется в почках) - активатор плазминогена – менее иммуногенна
- » **Проурокиназа** превращается в активную форму **только** при адсорбции на фибрине.



Фармакологические свойства фибринолитических препаратов

Свойства \ Препараты	Стрептокиназа	Алтеплаза	Тенектеплаза	Проурокиназа рекомбинантная
Воздействие на плазминоген	Непрямое	Прямое	Прямое	Прямое
Фибрин-специфичность	-	++	+++	++
$T_{1/2}$	23 мин	<5 мин	20–24 мин	30 мин
Антигенность	+	-	-	-

Показания

Острый артериальный и венозный тромбоз

Тенектеплаза - рекомбинантный фибрин-специфический активатор плазминогена,

Альтеплаза является производным естественного ТАП.

Обладают более высоким сродством к фибрину и устойчивостью к ингибиторам



Тромболитики:



В РФ:
Стрептокиназа
Альтеплаза
Тенектеплаза
Преурокиназа рекомбинантная

I – природные активаторы плазминогена (стрептокиназа, урокиназа)

II – фибриноселективные тромболитики (рекомбинантный тканевой активатор плазминогена rt-PA альтеплаза, рекомбинантная преурокиназа пулолаза)

III - усовершенствованные rt-PA : фибринспецифичная форма rt-PA — тенектеплаза, rt-PA с длительным периодом полувыведения — ланотеплаза, ацилированный комплекс «стрептокиназа + плазминоген»

IV поколение — усовершенствованные активаторы плазминогена III поколения (биосинтетические)

V поколение — композиции тромболитиков (rt-PA + урокиназа «урокиназа-плазминоген» и др.)



Факторы свертывания крови и воспалительный процесс

Воспаление - защитная реакция организма на повреждение ткани

Заболевание - нарушение в метаболизме клеток, вызванное химическими (токсическими), физическими (механическими) или биологическими (инфекционными) факторами - **приводит к воспалению.**

Развитие воспаления:

Повреждение ткани - изменения проницаемости капилляров – активация тромбоцитов - образование факторов воспаления – образование **микротромбов**- нарушение кровообращения- **воспалительный барьер** – **макрофаги**-захват чужеродного материала (остатков разрушенных клеток) - **лизис** – **восстановление** ткани.



Роль фибрина в воспалительном процессе

Фибриноген - это белок острой фазы воспаления, концентрация фибриногена увеличивается при воспалительных процессах, инфекционных заболеваниях.

Повреждение ткани – факторы воспаления- тромбин-фибрин-нерастворимый фибрин-токсины заключены в сгустке- предотвращение их распространения.

Роль Фибрина - локализация очага повреждения и препятствие распространения инфекции по сосудистому руслу; ускоряет заживление, и способствует быстрому возвращению к гомеостазу.

Фибриноген - источник образования **фибринопептидов** - обладающих противовоспалительной активностью.

Но: нарушение местного кровообращения - отек и боль. >

При нарушении системы гемостаза:

1. Недостаток фибрина - недостаточная изоляция
- распространение воспаления- нарушается
заживление раны —**образование рубцов**;

при нарушении механизма свертывания крови
возможны кровотечения.

2. Фибрин в избытке (чаще всего!)- выражены
симптомы воспаления —**обширный отек, острая
боль, нарушение кровообращения** - закупорка
сосудов микротромбами, задержка фагоцитоза -
позднее заживление-**образование рубцов** -
нарушение функции ткани - **опасность тромбоза** >

Роль фибрина и факторов свертывания крови в онкогенезе

1) В 1934. г. Фрейнд (Вена), в сыворотке крови людей и животных в норме содержатся вещества, которые вызывают лизис раковых клеток, а кровь раковых больных этим свойством не обладает.

2) Джон Бред – лечение опухолей вытяжками из поджелудочной железы – успешное применение

3) Протеолитическая активность сыворотки крови снижена при хронических воспалительных процессах.

У онкологических больных: – протеазный индекс - на порядок ниже нормы. Раковые клетки выделяют ингибиторы фибринолитических ферментов

4) Фибринолиз и свертывание крови играют важную роль в развитии опухолей и метастазировании: одна из стадий онкогенеза и образования метастазов - через образование тромбов вокруг раковых клеток

Содержание фибриногена в раковой ткани в 10 раз выше чем в здоровой ткани

Протеазы как противовоспалительные средства

Обратный процесс - восстановление нормального состояния- восстановление микроциркуляции – **фибринолиз и удаление продуктов распада**

При недостатке плазмина или тканевых активаторов плазминогена– **задержка фибринолиза** - причина патологических процессов после воспаления



Лечение воспалительных процессов

Повышение протеолитического потенциала крови и межклеточной жидкости

- 1) Ингибирование образования нерастворимого фибрина
- 2) Фибринолиз – профилактика и лечение воспаления.

Протеазы, коллагеназы, гиалуронидазы:

трипсин, химотрипсин, папаин, бромелин, стрептокиназа, «Wobenzym».

Лечение воспалительных процессов основано на их **фибринолитическом и противоотечном действии**

Лечение рубцов, ожогов - в хирургии, в ортопедии в стоматологии, в отоларингологии



Бромелайн. Вобензим

Противовоспалительные, противоотечные, ,
иммуностимулирующие, фибринолитические
препараты из натуральных сред

