

**Кафедра біохімії ім. професора О.О. Пентюка
ВНМУ ім. М.І. Пирогова**

ВК 5.3 КЛІНІЧНА БІОХІМІЯ та МІКРОБІОЛОГІЯ
(МОДУЛЬ 1. Клінічна біохімія)

**ЛЕКЦІЯ 2. КЛІНІЧНА БІОХІМІЯ КРОВІ. БІОХІМІЯ
СИСТЕМИ ГЕМОСТАЗУ ТА ФІБРИНОЛІЗУ, МЕТОДИ
ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ. ТРОМБОФІЛІЇ.**

Розробник: професор Наталія ЗАІЧКО

План лекції

- Гемостаз. Біохімічні фактори ендотелію судин та тромбоцитів, їх участь в гемостазі. Агрегатометрія.
- Коагуляційний гемостаз: фази, шляхи, принципи активації факторів згортання крові, молекулярні механізми гемостазу. Патологія
- Антикоагулянти та інгібітори згортання крові (протеїн С, протеїн S, антитромбін III).
- Система фібринолізу (плазміноген, активатори та інгібітори). Патологія
- Патобіохімія тромбофілій.
- Принципи лабораторної оцінки стану системи гемостазу.

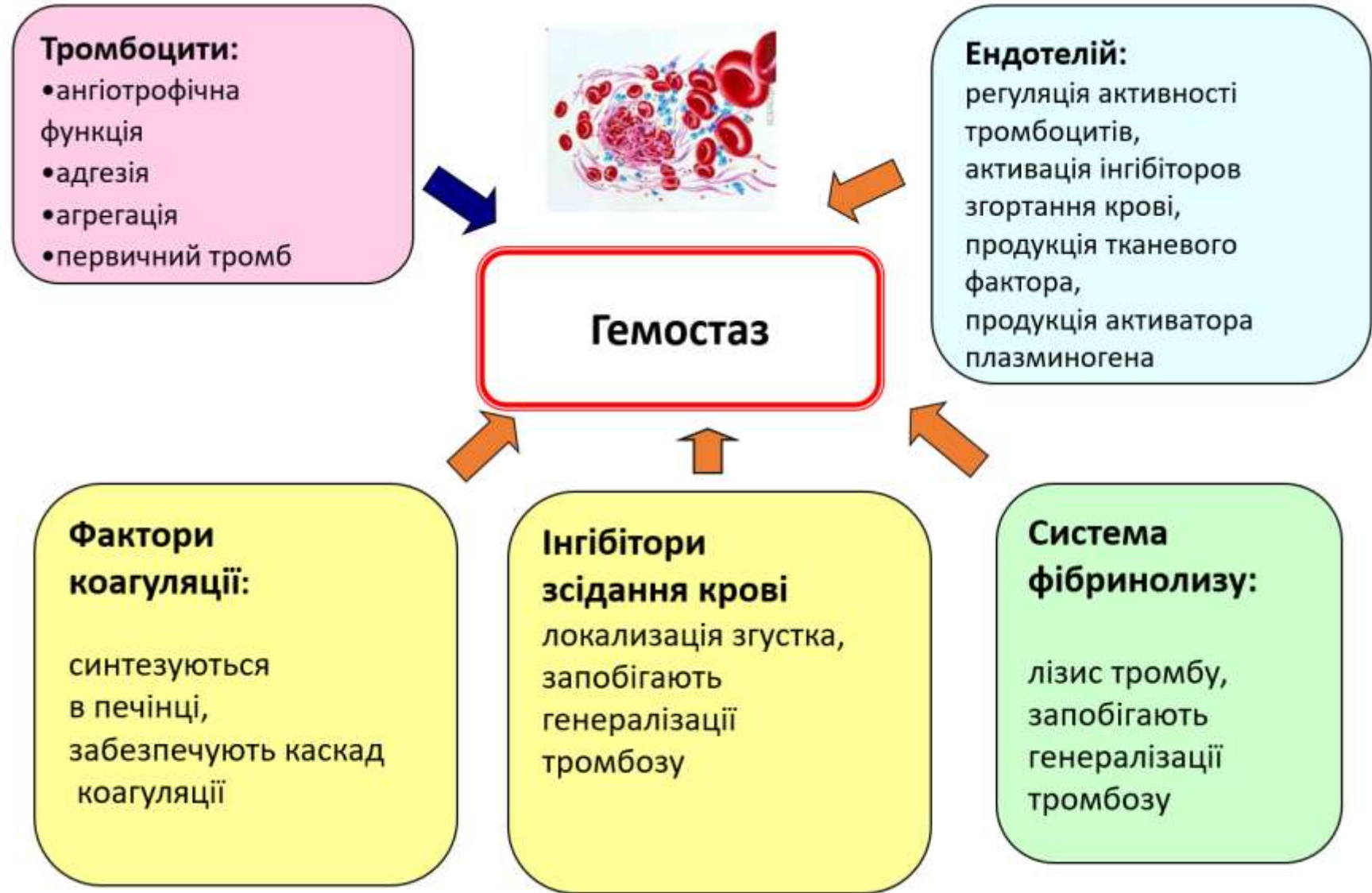
Гемостаз

- **Гемостаз** (грец. *haima* – кров + *stasis* – стан) – це еволюційно сформована захисна реакція організму, що полягає в зупинці кровотечі при пошкодженні судини.
- Система гемостазу – це сукупність судинних, тромбоцитарних і гуморальних компонентів плазми крові, яка забезпечує швидку зупинку кровотечі при пошкодженні судин.
- Гемостатичний процес починається з травми чи розриву судини і закінчується утворенням гемостатичної пробки – тромбу, який механічно попереджає подальші крововтрати и створює умови для відновлення тканин.
- Система гемостазу є складною біологічною системою, яка не лише попереджає чи зупиняє кровотечу, а й сприяє підтримці крові в рідкому стані через взаємодію двох основних механізмів гемостазу: судинно-тромбоцитарного (утворення первинного тромбу) та коагуляційного.



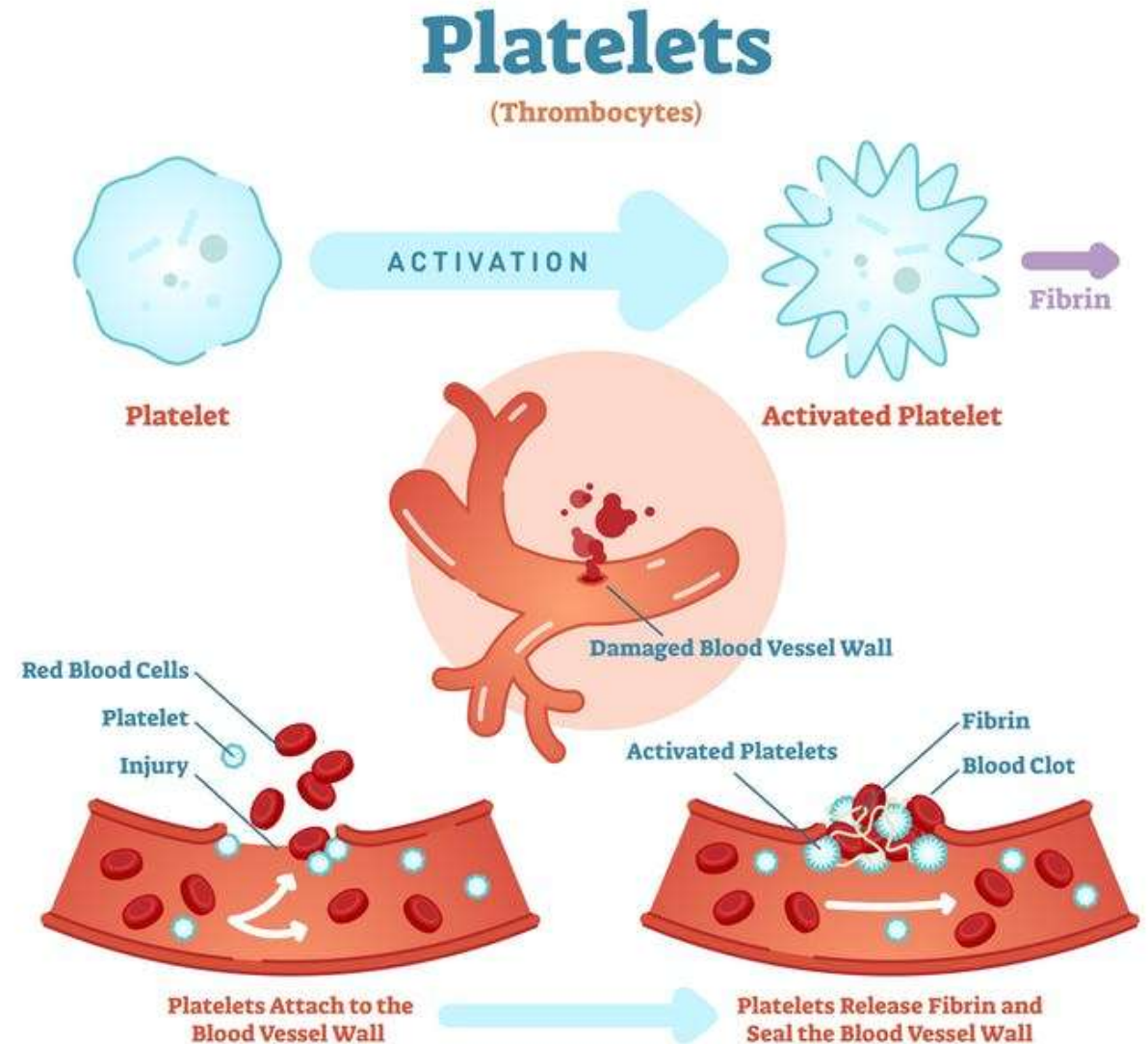
Гемостаз залежить від взаємодії п'яти основних складових:

- Ендотелію кровоносних судин
- Клітин крові (тромбоцитів та ін.)
- Плазмових факторів зсідання крові
- Компонентів протизгортальної системи крові
- Компонентів системи фібринолізу



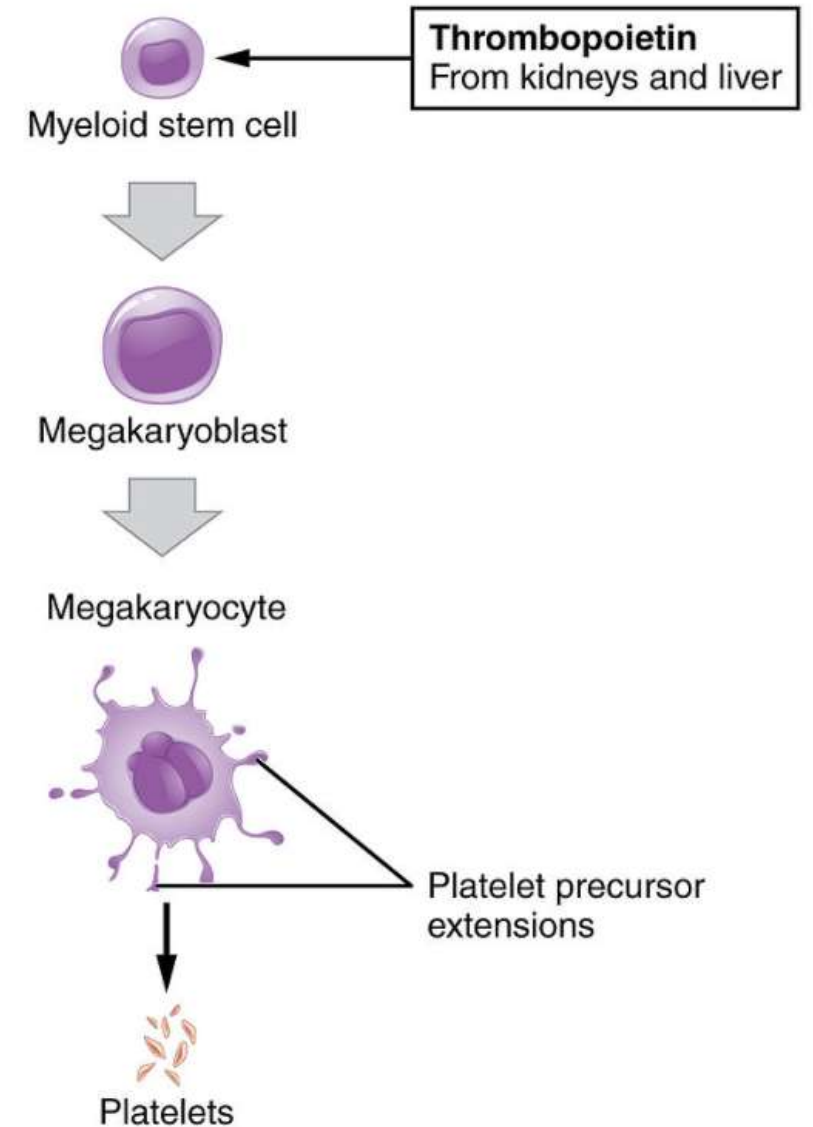
Етапи судинно-тромбоцитарного гемостазу

1. Короткочасний спазм судин.
2. Адгезія тромбоцитів (прилипання тромбоцитів до судинної стінки).
3. Агрегація тромбоцитів:
 - а) зворотня агрегація (утворюється нещільний тромбоцитарний згусток, через який проходить плазма крові);
 - б) незворотня агрегація (утворюється щільний гомогенний тромбоцитарний згусток, що не пропускає плазму крові).
4. Ретракція тромбоцитарного тромба.



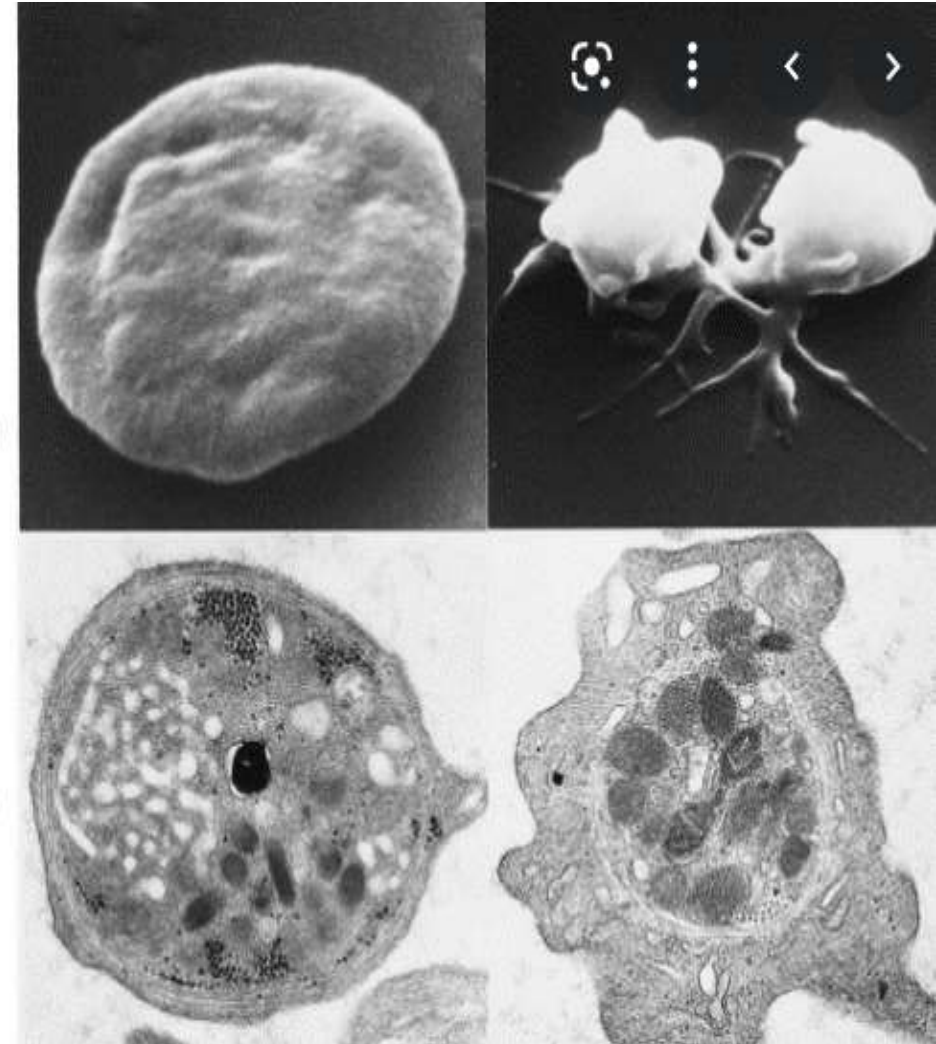
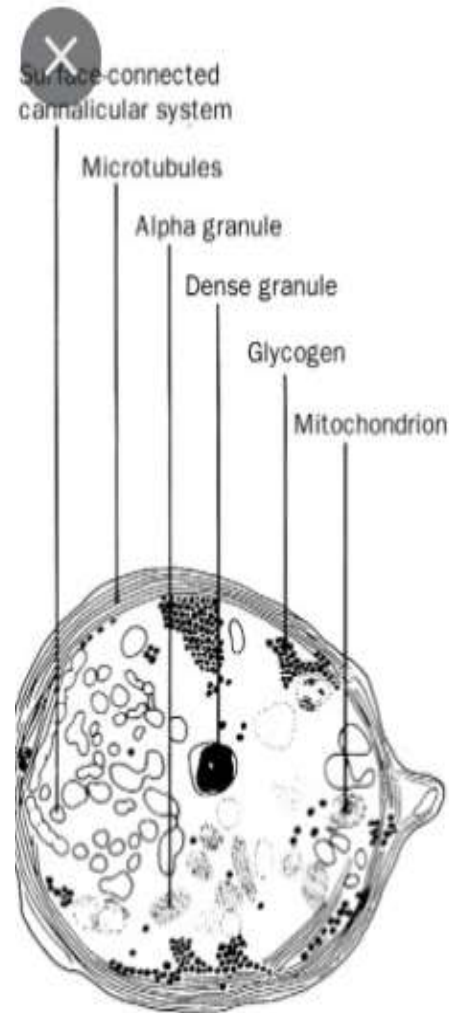
Тромбоцити - клітини крові, які відіграють центральну роль у згортанні крові

- Тромбоцити є фрагментами мегакаріоцитів, що утворюються в кістковому мозку. Вони не містять ядра, тому практично не здатні до синтезу нових білків. Середня тривалість життя тромбоцита 5-8 днів.
- Вміст тромбоцитів у крові в нормі: новонароджені 1 – 10 днів – $(99 - 421) \times 10^9 / \text{л}$; старше 10 днів та дорослі – $(180 - 320) \times 10^9 / \text{л}$.



В цитоплазмі тромбоцитів мітяться три типи гранул:

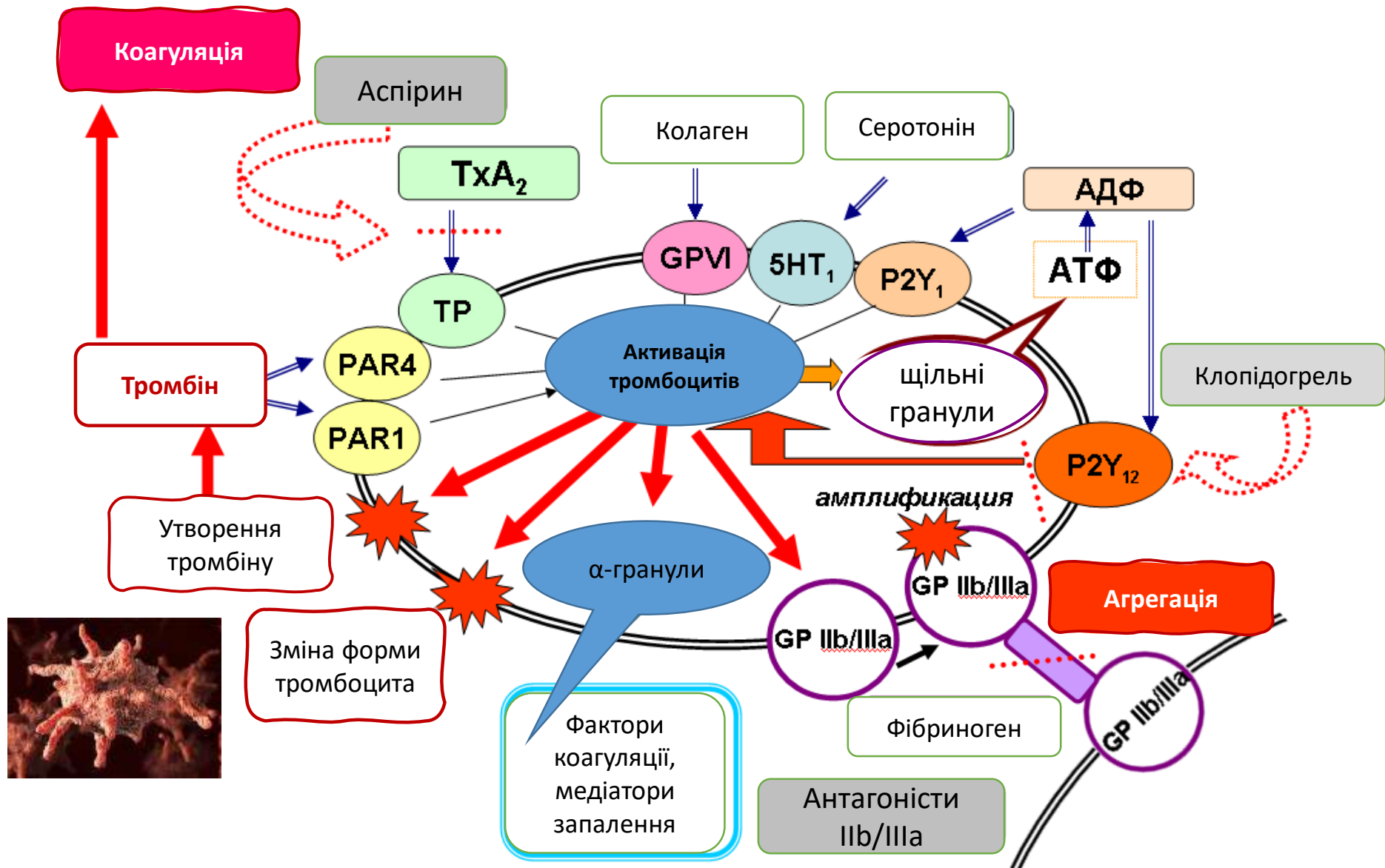
- **альфа-гранули** - накопичують та секретують фібриноген, фактор Віллебанда та інші фактори коагуляції; у тромбоцитах наявні близько 12 факторів, які беруть участь у згортанні крові.
- **щільні гранули** – містять речовини, необхідні для активації та агрегації тромбоцитів – АДФ, серотонін, адреналін, іони кальцію,
- **лізосомальні гранули** містять кислі гідролази.
- В мембрані тромбоцитів знаходяться різні типи рецепторів (до колагену, тромбіну, АДФ, адреналіну, тромбоксану, адреналіну, ендотеліну та ін.), а також рецепторподібних білків, які зв'язують та утримують на їх поверхні комплекси факторів згортання крові.



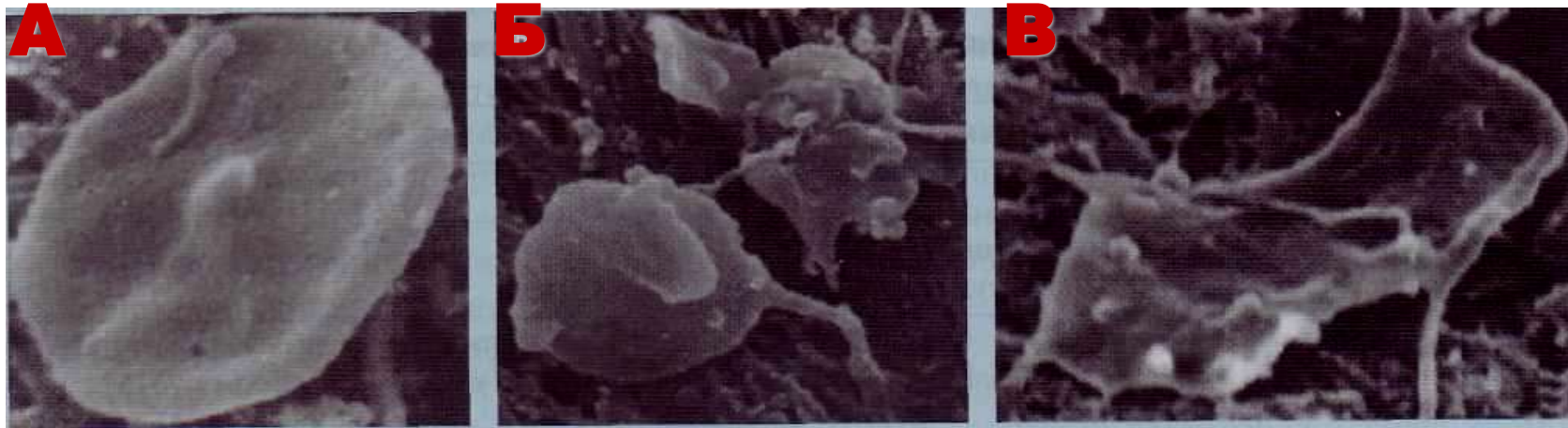
ТРОМБОЦИТАРНІ ФАКТОРИ

- Фактор 1 — бере участь у протромбіназоутворенні та пришвидшує тромбіноутворення.
- Фактор 2 — акселератор тромбіну — пришвидшує перетворення фібриногену у фібрин.
- Фактор 3 — мембранний фосфоліпідний фактор — матриця для плазмових факторів при утворенні протромбінази.
- Фактор 4 — антигепариновий.
- Фактор 5 — аглютинабельний, схожий на фібриноген.
- Фактор 6 — антифібринолітичний.
- Фактор 7 — антитромбопластичний, перешкоджає утворенню протромбінази.
- Фактор 8 — ретрактозим (тромбастенін), аналог актоміозину, викликає ретракцію та зближення ниток фібрину на тромбоцитах.
- Фактор 9 — серотонін, вазоконстриктор, виділяється при активації АДФ, адреналіном, колагеном.
- Фактор 10 — тромбопластин, пришвидшує тромбіноутворення за певних умов. Роль до кінця не встановлена.
- Фактор 11 — аналог фактора XIII.
- Фактор 12 — АДФ, фактор адгезії та агрегації тромбоцитів.

Рецептори тромбоцитів та їх ліганди (активатори та інгібітори)



СТАДІЇ АКТИВАЦІЇ ТРОМБОЦИТІВ



А – неактивний тромбоцит (дискоцит)

Б – зворотня активація (шароподібні тромбоцити з псевдоподіями)

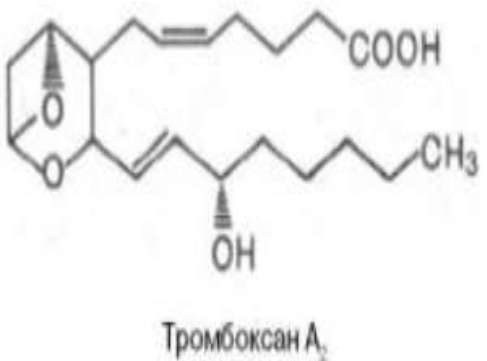
В – незворотня активація
 (“тінь тромбоцита”)

Г – неозворотня агрегація тромбоцитів



**Головні регулятори стану
тромбоцитів утворюються в
каскаді арахідонової кислоти**

- Тромбоксан А₂
- Простациклін



Тромбоцит

Тромбоксансинтетаза

ТРОМБОКСАН А₂

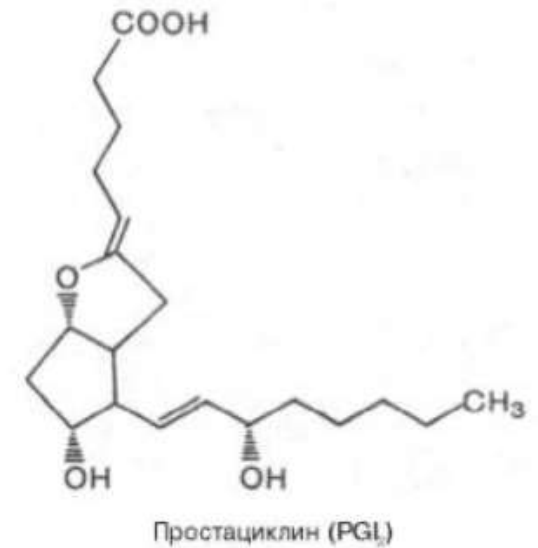
Агрегация
тромбоцитів
Звуження судин

Ендотелій

Простациклінсинтетаза

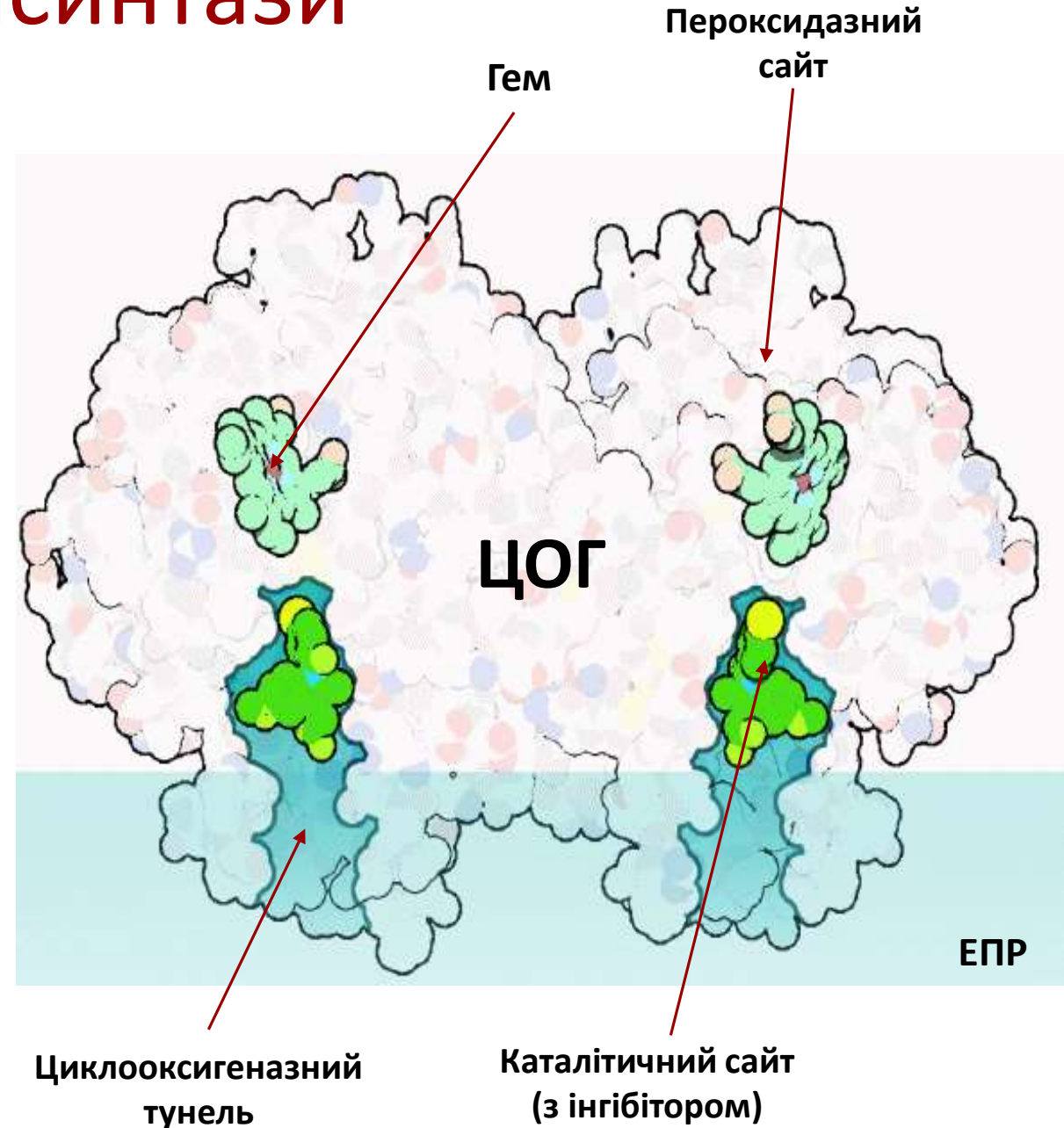
ПРОСТАЦИКЛІН

Антиагрегантна дія
Розширення судин



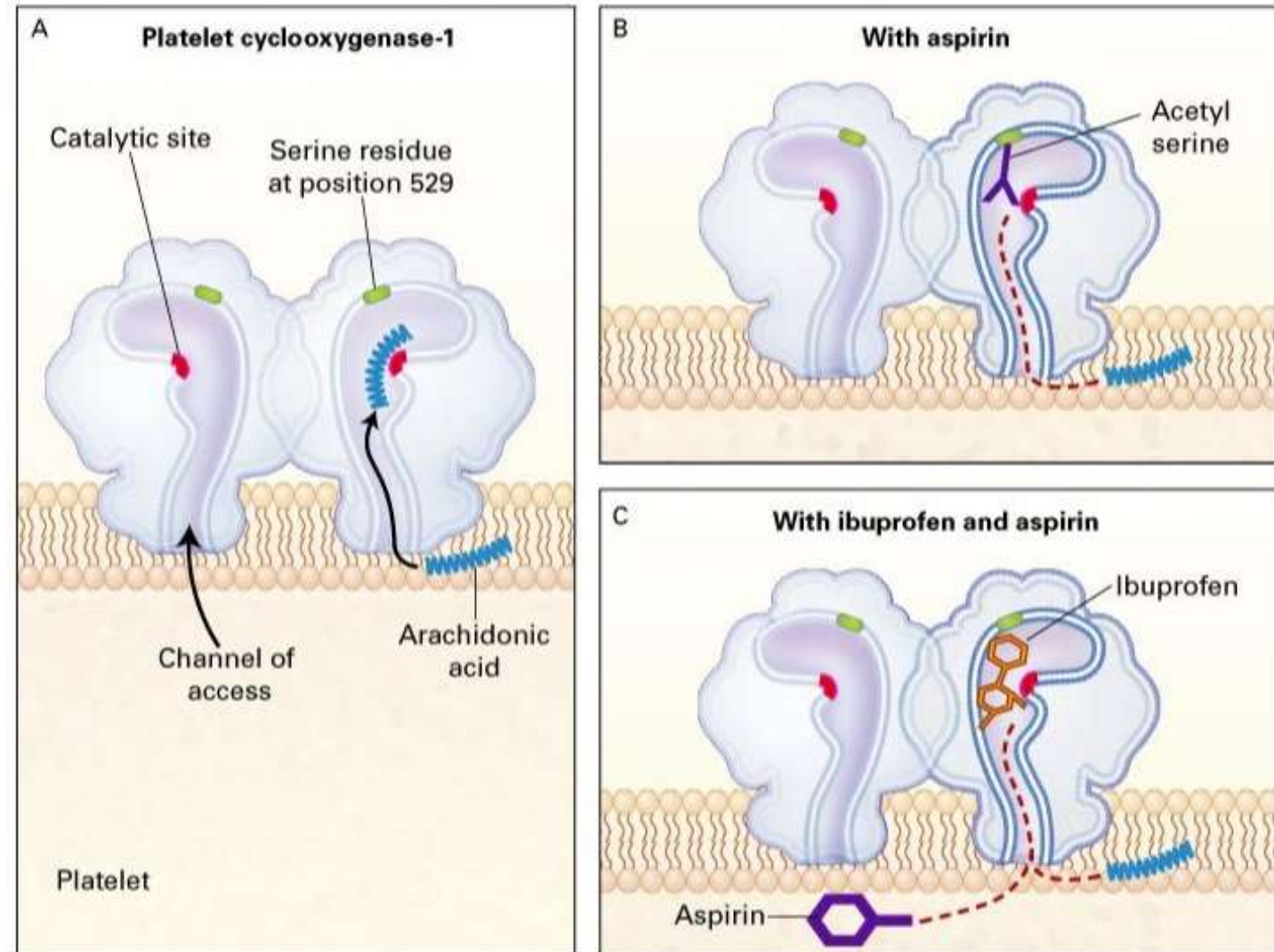
Структура простагландинсинтази

- **Простагландинсинтаза** (циклооксигеназа) складається з 2-х симетричних протеїнів (гомодимерів), які заглиблені в мембрану ендоплазматичного ретикулума (ЕПР). Фермент має 2 різних активних центри:
- **циклооксигеназний сайт** - розташований у спеціальному заглибленні; до нього субстрат – арахідонова кислота надходить через тунель, занурений у мембрану; тут утворюється простагландин G₂ (PGG₂)
- **пероксидазний сайт** - містить гем; до нього надходять PGG₂, що утворився у циклооксигеназному центрі і перетворюється у PGE₂, який потім вивільняється у цитозоль.
- **Інгібітори ЦОГ** – надходять через тунель і блокують роботу каталітичної ділянки активного центру. Так діють нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ) - аспірин, ібупрофен, коксиби.



Механізм інгібування ЦОГ та зниження синтезу тромбоксану у тромбоцитах

- **А – Арахідонова кислота** надходить в активний центр ферменту через гідрофобний канал, у каталітичній ділянці перетворюється у циклічні ендопероксиди (PGG₂ і PGH₂). Потім PGH₂ перетворюється тромбоксансинтазою у тромбоксан А₂
- **В** - Аспірин блокує доступ арахідонової кислоти до каталітичного сайту ЦОГ-1 **шляхом необоротного ацетилювання залишку серину в положенні 529** поряд з каталітичним центром. Це запобігає перетворенню арахідонової кислоти в PGG₂ і PGH₂ протягом усього життя тромбоцитів, і синтезу тромбоксану А₂ (до утворення популяції нових тромбоцитів).
- **С** – Ібупрофен є оборотним конкурентним інгібітором ЦОГ, тому викликає оборотне пригнічення синтезу тромбоксану А₂. Попереднє заповнення каталітичного сайту ібупрофеном перешкоджає аспірину отримати доступ до цільового серину.



Ендотелій відіграє ключову роль у регуляції судинного тонусу, кровоплину та гемокоагуляції

- забезпечує субендотелій структурними молекулами – компонентами базальної мембрани, колагеном, еластином, мукополісахаридами, які і створюють дифузний бар'єр між кров'ю та тканинами.
- регулює реактивність тромбоцитів, контролює міграцію лейкоцитів, регулює текучість крові
- продукує речовини, які підтримують кров в рідкому стані – гепарин, гепарансульфат, які активують антитромбін III (основний інгібітор згортання крові), активатор плазміногену (ініціює процес розчинення фібрину - фібриноліз), тромбомодулін, який зв'язує тромбін і переключає його з процесу коагуляції на активацію інгібітору згортання крові протеїну С.
- продукує вазодилататори та антиагреганти – простациклін, оксид азоту, гідроген сульфід.
- продукує фактор активації тромбоцитів, інгібітори активаторів плазміногену, тканинний фактор, вазоконстриктор ендотелін-1.
- субендотеліальний шар стінки судин складається з волокон колагену, еластину, протеогліканів і неколагенових білків, у тому числі фібронектину та фактору Віллебранда. Після ушкодження ендотелію він стає стимулятором агрегації тромбоцитів.

Ендотеліальні фактори скорочення та розслаблення судинної стінки

Вазоконстриктори	Вазодилататори
<ul style="list-style-type: none">• Ендотелін (у високих концентраціях)• Ангіотензин II• Тромбоксан A₂• Простациклін H₂	<ul style="list-style-type: none">• Оксид азоту• Ендотелін (в низьких концентраціях)• Простациклін (PGI₂)• Ендотеліновий фактор деполяризації (EDHF)

Ендотеліальні фактори зсідання та протизсідання крові

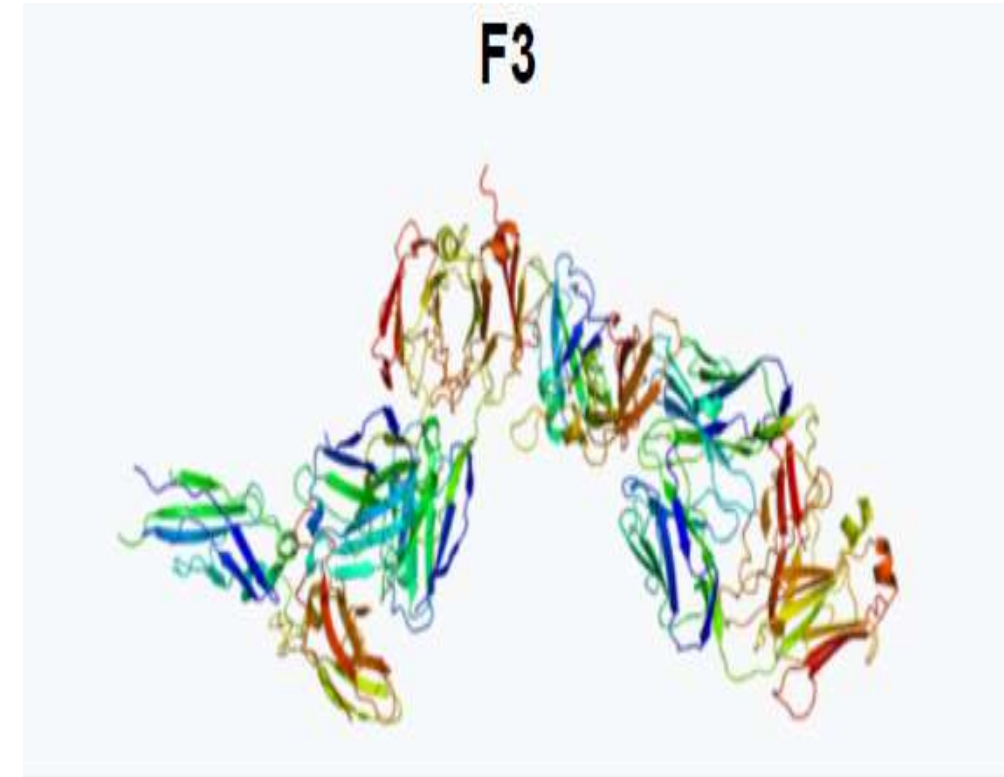
Протромбогенні	Антитромбогенні
<ul style="list-style-type: none">• Тромбоцитарний ростовий фактор (PDGF)• Інгібітор активатора плазміногену• Фактор Виллебранда• Ангіотензин IV• Ендотелін-1	<ul style="list-style-type: none">• Оксид азоту• Тканинний активатор плазміногену (ТАП)• Простациклін (PGI₂)

Ендотеліальні фактори, які впливають на ангіогенез

Стимулятори	Інгібітори
Ендотелін-1 Ангіотензин II Активні форми кисню	Оксид азоту Простациклін (PGI ₂) С-натрійуретичний пептид

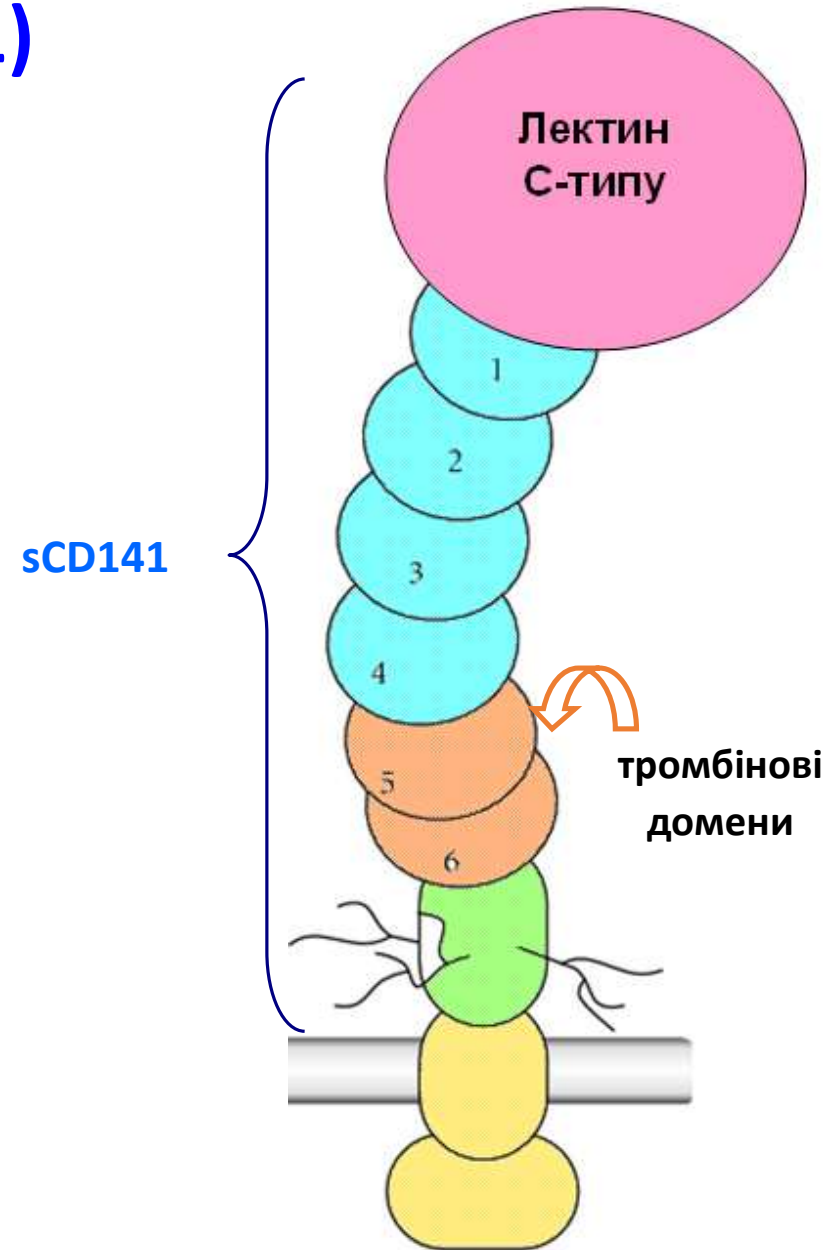
Тканинний фактор (TF)

- **Тканинний фактор** (*Tissue factor, platelet tissue factor, factor III, CD142*) - раніше його називали тканинним тромбопластином, фактором III. Це трансмембранний білок (ліпопротеїн), який знаходиться на клітинах субендотелія (фібробластах, макрофагах, міоцитах) та інших клітинах, в нормі в кров не поступає.
- Виконує функцію кофактора/ рецептора, бере участь в активації фактора X зовнішнім шляхом.
- **Фізіологічними стимуляторами синтезу тканинного фактору є цитокіни (ІЛ-1, ФНП-альфа).**
- Підвищення експресії тканинного фактору виявляється при запаленні, сепсисі, пухлинах, інфаркті міокарду, при прийомі гормональних контрацептивів, палінні, що збільшує ризик тромбозів.
- Інтактний ендотелій діє як потужна антикоагулянтна поверхня та вазодилататор, яка при травмі або стимуляції перетворюється на потужну прокоагулянтну поверхню та вазоконстриктор.

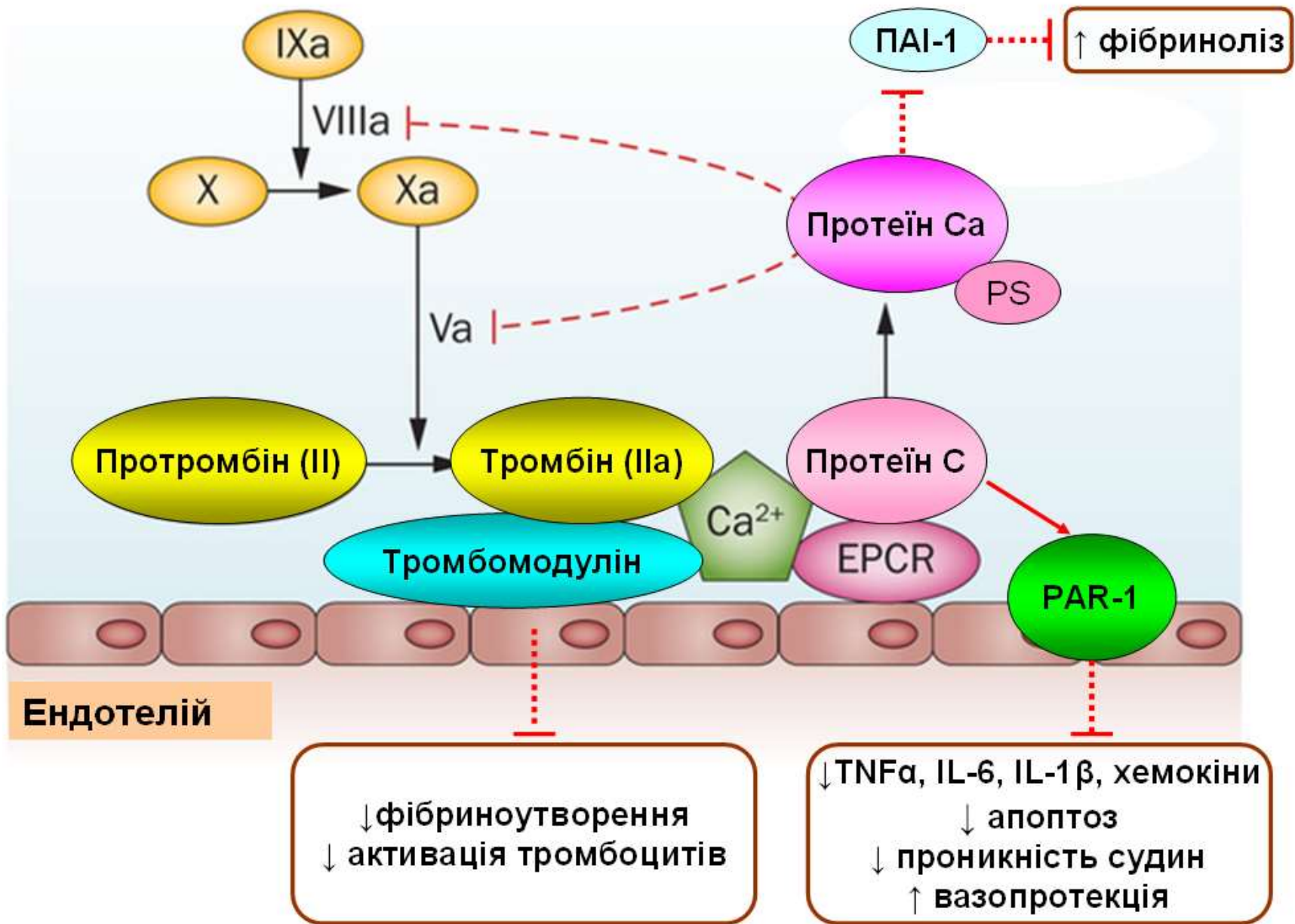


ТРОМБОМОДУЛІН (CD141)

- інтегральний мембранний глікопротеїн ендотеліоцитів
- рецептор, що зв'язує тромбін (ТМ-тромбін) з високою афінністю
- експресія ТМ зростає зі збільшенням відношення *поверхня судини / об'єм крові*
- вміст ТМ в мікроциркуляторному руслі в 1000 разів більше, ніж в крупних судинах
- вміст *sCD141 (розчинного ТМ)* зростає в крові при пошкодженні ендотелію

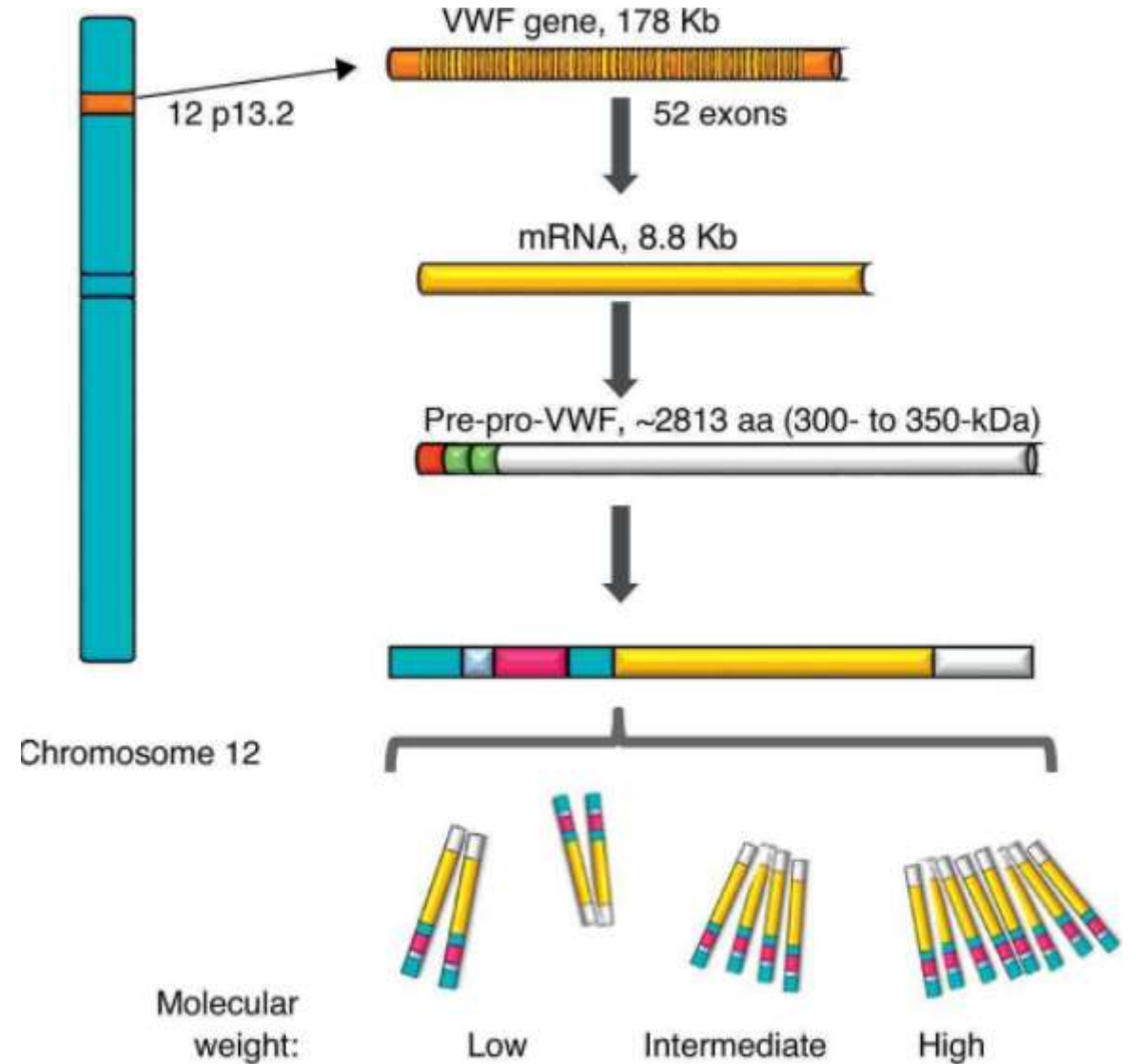


БІОЛОГІЧНА РОЛЬ ТРОМБОМОДУЛІНУ

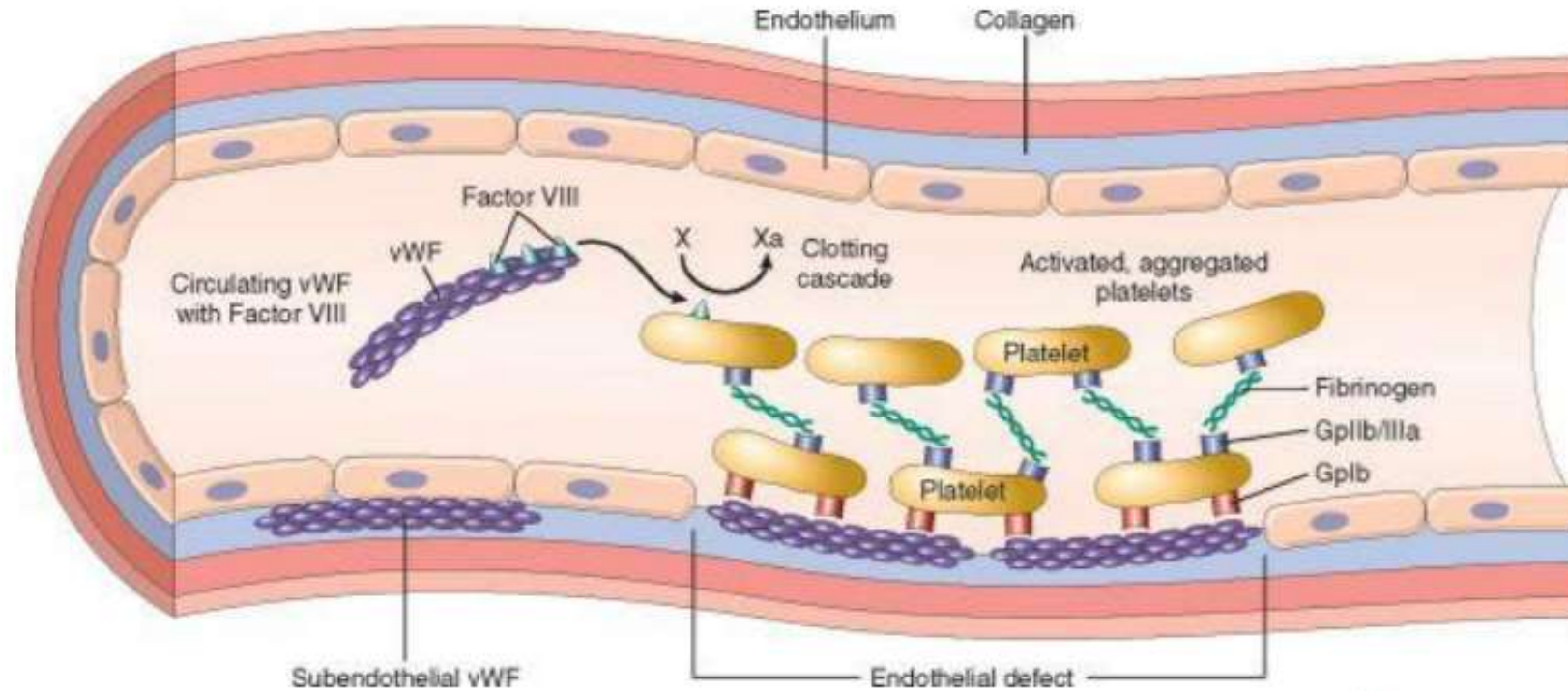


Фактор Віллебранда

- Глікопротеїн, що синтезується ендотелієм та тромбоцитами
- Відіграє важливу роль в гемостазі:
 - забезпечує активацію та адгезію тромбоцитів до стінки судин;
 - в кровотоці зв'язує та переносить фактор VIII гемостазу
- При дефіциті vWF виникає хвороба Віллебранда (кровотечі, гемофілія)



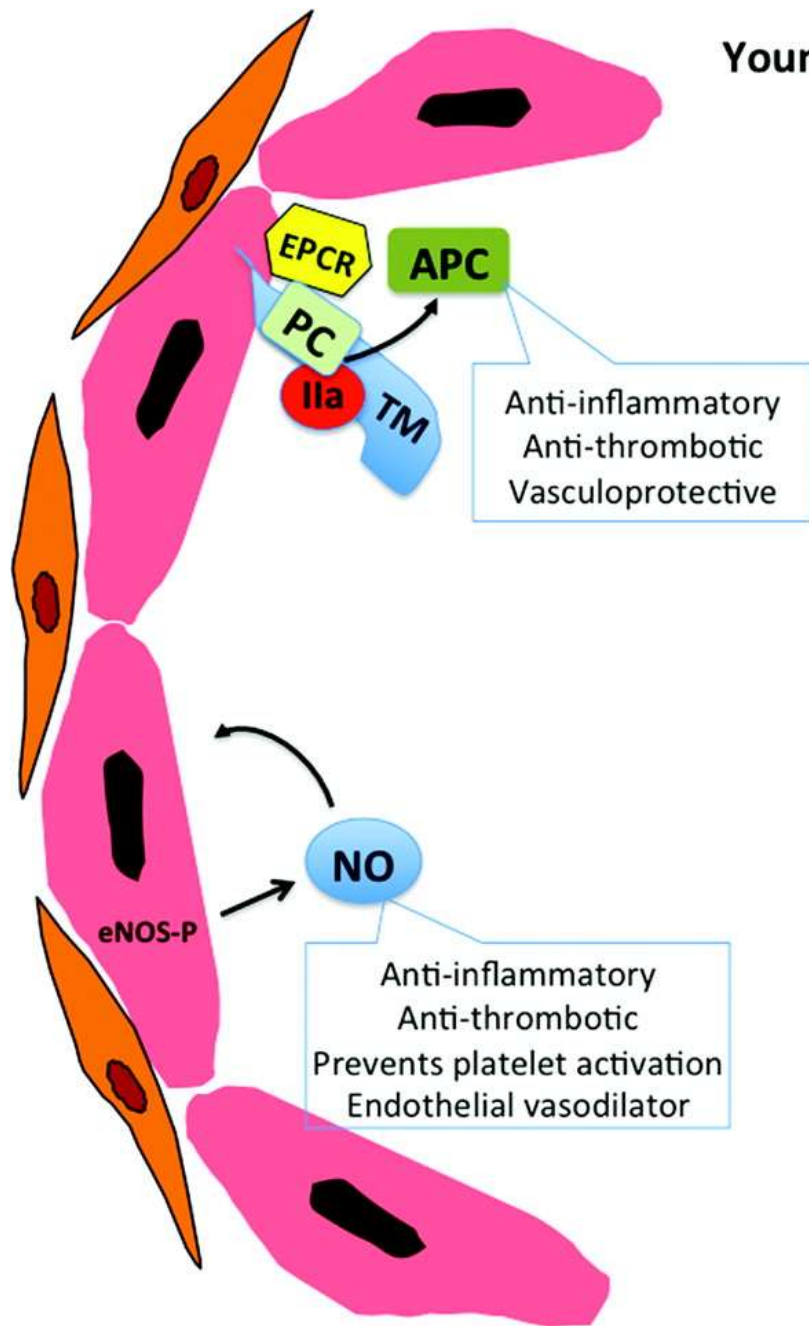
vWF Plays Two Major Roles



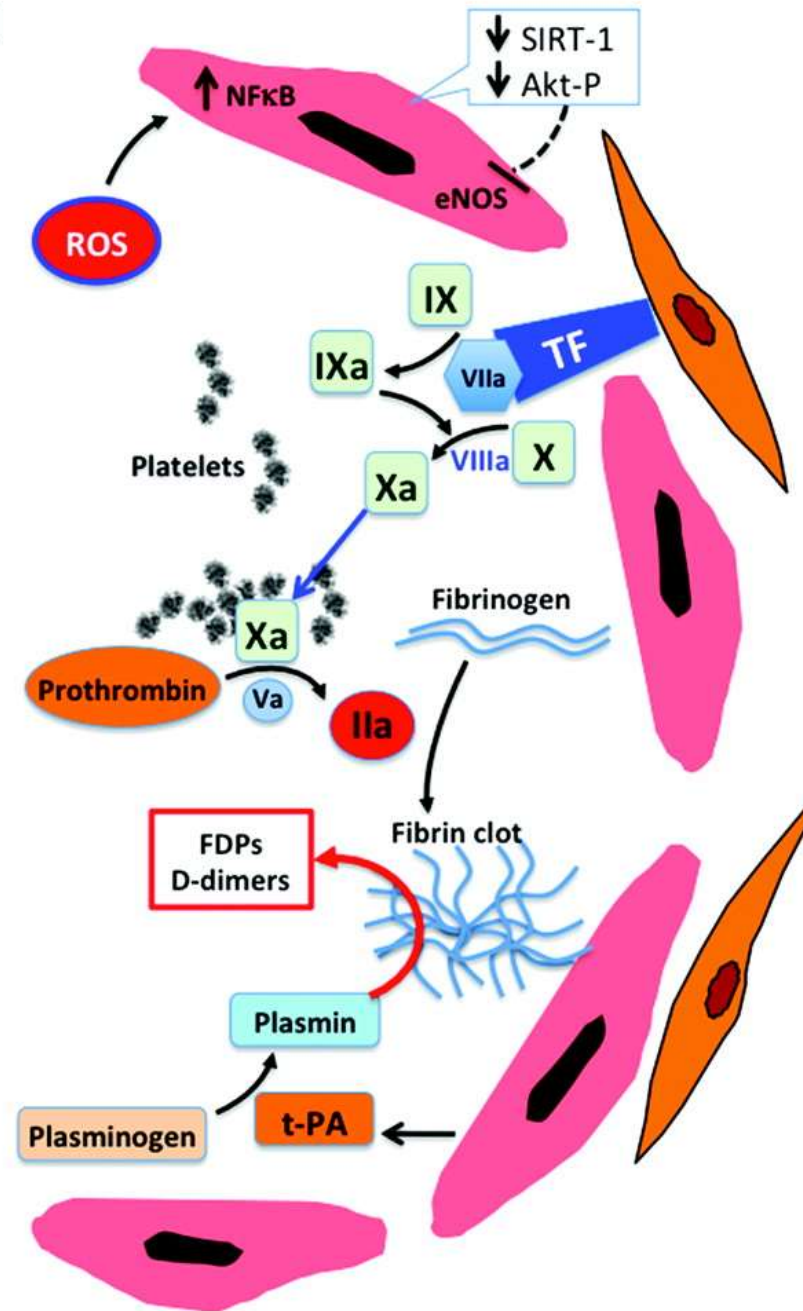
vWF tethers the platelet to exposed collagen

vWF serves as a carrier protein for factor VIII

В процесі старіння атромбогенні властивості ендотелію знижуються. Це пов'язано з розвитком дисфункції ендотелію внаслідок порушення продукції простацикліну та оксиду азота.



Young Old



Біохімічні чинники порушення функціонального стану тромбоцитів (тромбоцитопатій)

- Порушення вмісту тромбоцитарних гранул, аномалії рецепторів на мембрані тромбоцитів (**тромбоцитопатії, хвороба Віллебранда**) приводять до порушення адгезії та агрегації тромбоцитів, що проявляється порушеннями судинно-тромбоцитарного гемостазу та кровоточивістю.
- **При тромбастенії Гланцмана** – вродженій недостатності рецепторів до фібриногену GPIIb-IIIa порушується агрегація тромбоцитів та ретракція згустка.
- **При хворобі Бернара-Сулье** не відбувається зв'язування фактору Віллебранда з рецепторами тромбоцитів і порушується процес агрегації.
- **Гіперреактивність тромбоцитів** виявляється при атеросклерозі, серцево-судинній патології, цукровому діабеті, дисліпідеміях.
- Діагностика тромбоцитопатій включає дослідження тромбоцитарних індексів, агрегації тромбоцитів (на агрегометрах з використанням різних стимуляторів).
- Препарати, які пригнічують агрегацію тромбоцитів за рахунок порушення утворення індукторів агрегації тромбоцитів, застосовуються для профілактики тромбозів. До них відносяться інгібітори циклооксигенази – **аспірин, який блокує утворення тромбоксану, інгібітори фосфодіестерази (дипіридабол)** та **блокатори рецепторів тромбоцитів до АДФ – клопідогрель, плавікс та ін.**

Тромбоцитарні індекси (гематологічний аналізатор)

MPV - mean platelet volume - середній об'єм тромбоцитів

Норма - 8.6 – 8.9 фл у дітей 1 – 5 років

у людей старше 70 років - до 9.5 – 10.6 фл.

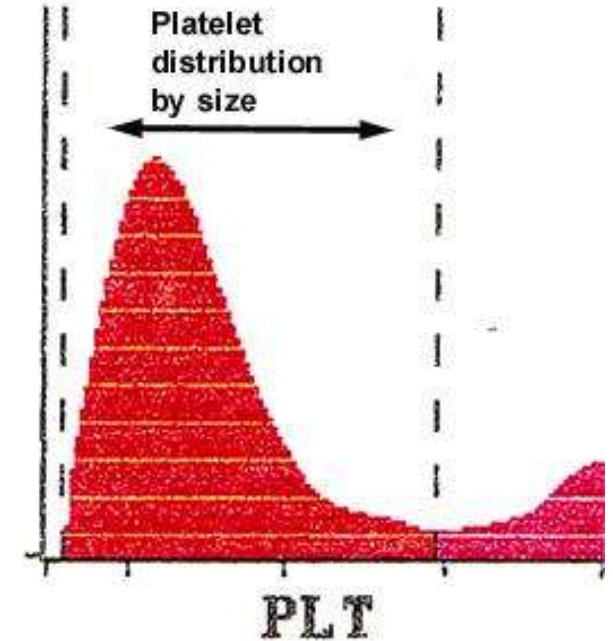
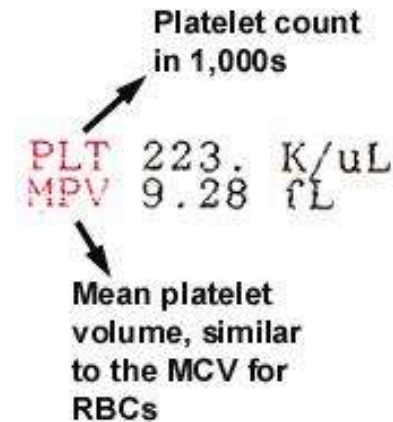
Молоді кров'яні пластинки мають більший об'єм, тому при прискоренні тромбоцитопоеза середній об'єм тромбоцитів зростає.

Зростання цього показника може мати фізіологічне значення після:

- кровотечі; значної травми; об'ємного хірургічного втручання;
- лікування анемії; після рясної менструації.

Патологічне збільшення буває при:

- аутоімунній тромбоцитопенії;
- гіпертиреозі; цукровому діабеті ;
- атеросклерозі;
- у курців та осіб, які страждають на алкоголізм;



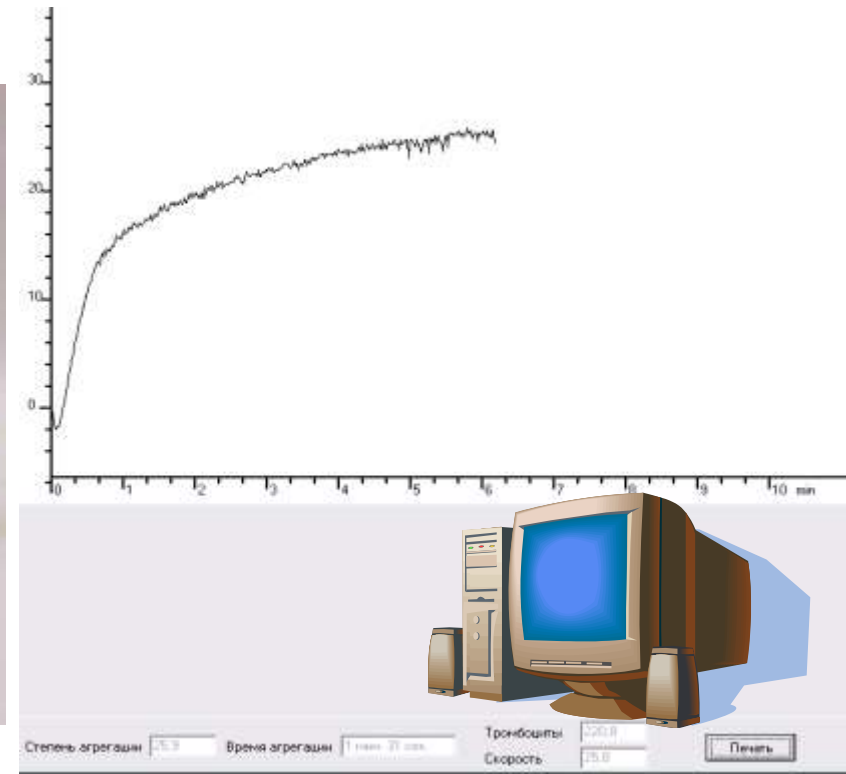
PDV – ширина розподілу тромбоцитів за об'ємом (ступінь анізоцитозу тромбоцитів). В нормі - 1 – 20%.

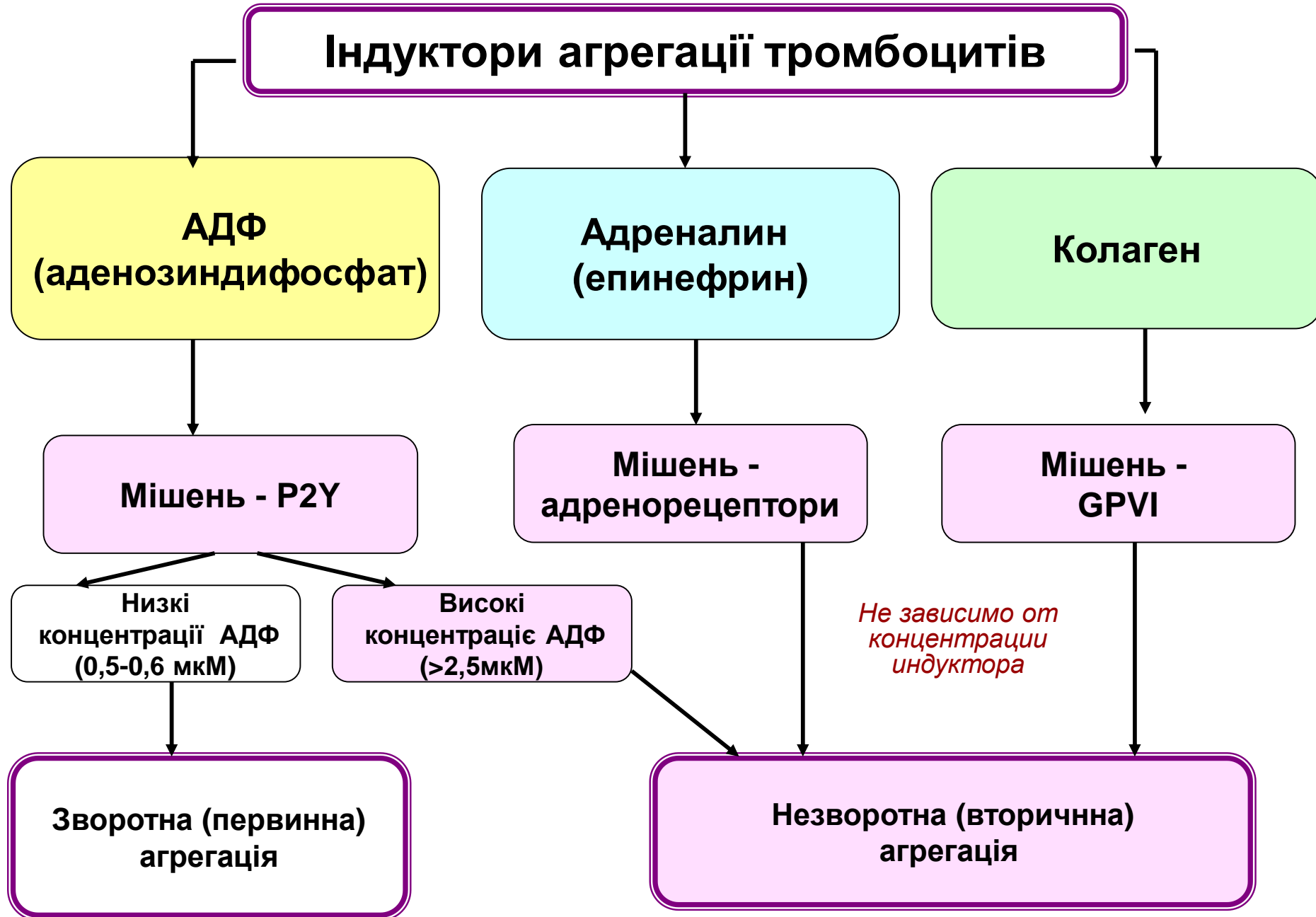
PCT – тромбокрит (0,15 -0,40 %)

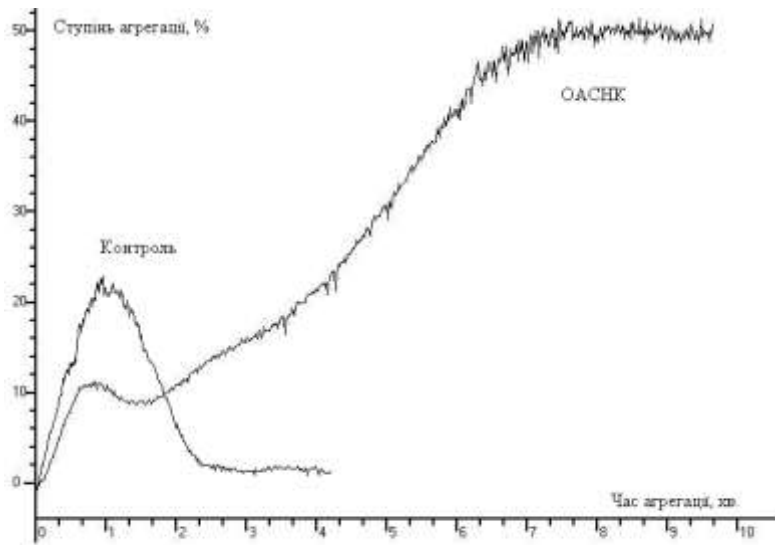
Агрегація тромбоцитів реєструється на фотооптичних агрегометрах типу AP2110 :

Ступінь агрегації - максимальний рівень світлопропущення ПБТ після внесення індуктору агрегації (100% - рівень світлопропущення ПБТ)

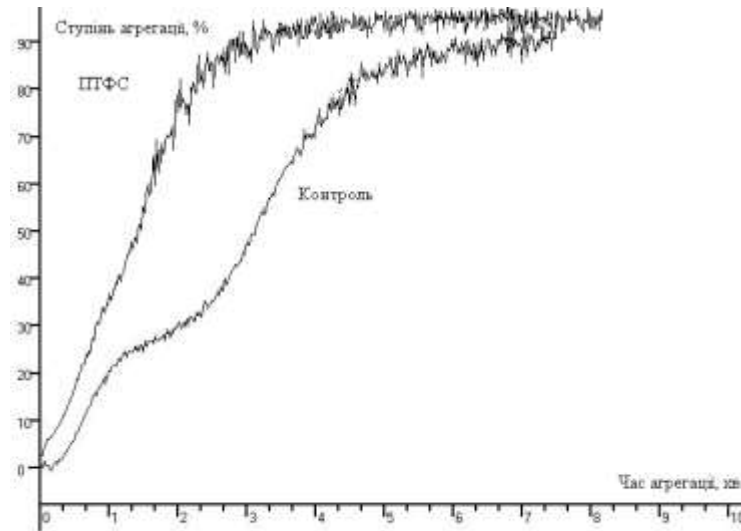
Швидкість агрегації – зміна світлопропущення ПБТ після внесення індуктору за перші 30 сек



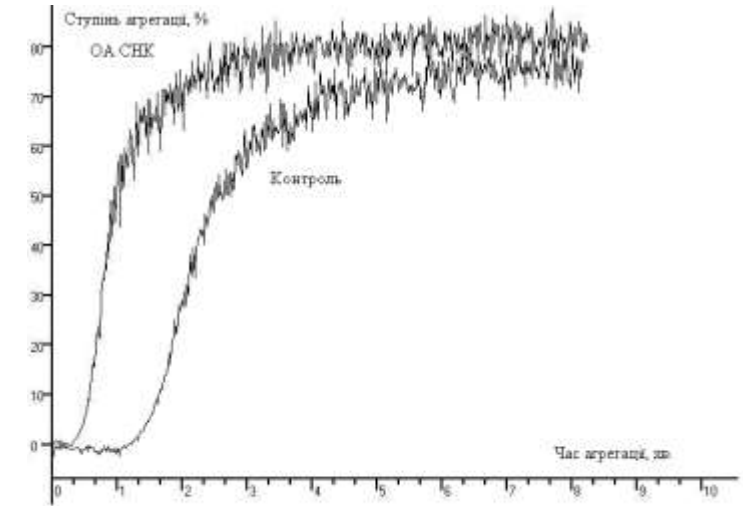




Агрегатограма в нормі та пацієнта з облітеруючим атеросклерозом.
Гіперреактивність тромбоцитів.
 Індуктор агрегації - АДФ (концентрація 0,625 мкМ)

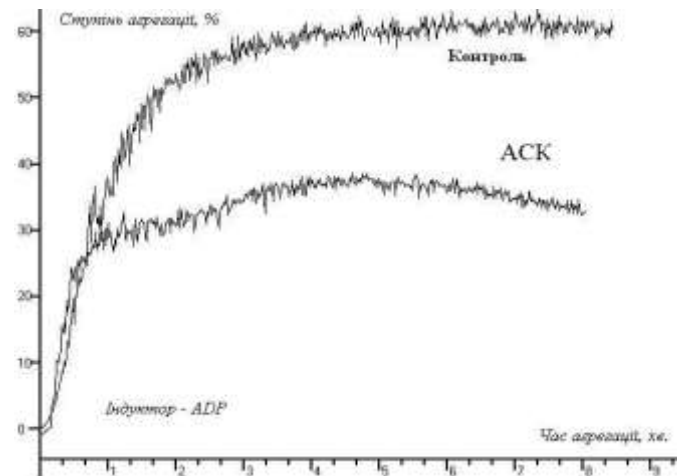


Агрегатограма в нормі (двухфазна) та пацієнта з ПТФС (однофазна).
Гіперреактивність тромбоцитів.
 Індуктор агрегації - адреналін (концентрація 2,5 мкМ)



Агрегатограма в нормі та пацієнта з ПТФС (скорочення лаг-фази).
Гіперреактивність тромбоцитів.
 Індуктор агрегації – колаген (концентрація 2 мг/л)

Інгібування агрегації тромбоцитів при прийомі ацетилсаліцилової кислоти (АСК) порівняно із вихідним станом (контроль).
 Індуктор агрегації - АДФ (2,5 мкМ).



Фактори згортання крові

❖ Вітамін К-залежні фактори

II (протромбін)

VII (проконвертин),

IX (антигемофільний глобулін В, фактор Кристмаса),

X (тромботропин, фактор Стюарта-Прауера)

(при дефіциті вітаміну К утворюються білки PIVKA)

❖ Фактори контакту (кофакторні білки)

XII (контактний фактор Хагемана)

XI (попередник плазмового тромбопластину)

прекалікреїн (фактор Флетчера)

ВМК (фактор Фітцджеральда)

❖ Тромбінзалежні білки

фібриноген (фактор I)

фактор XIII (трансглутаміназа, фібринстабілізуючий фактор)

фактор V (проакцелерин)

фактор VIII (антигемофільний глобулін А)

Фази згортання крові

I. Утворення протромбіназного комплексу

Зовнішній шлях

тканинний фактор



VII → VIIa



VIIa+тканинний фактор+ Ca²⁺

(теназа)



X → Xa

Внутрішній шлях фосфоліпиди



XII → XIIa



XI → XIa → XIa + Ca²⁺



IX → IXa



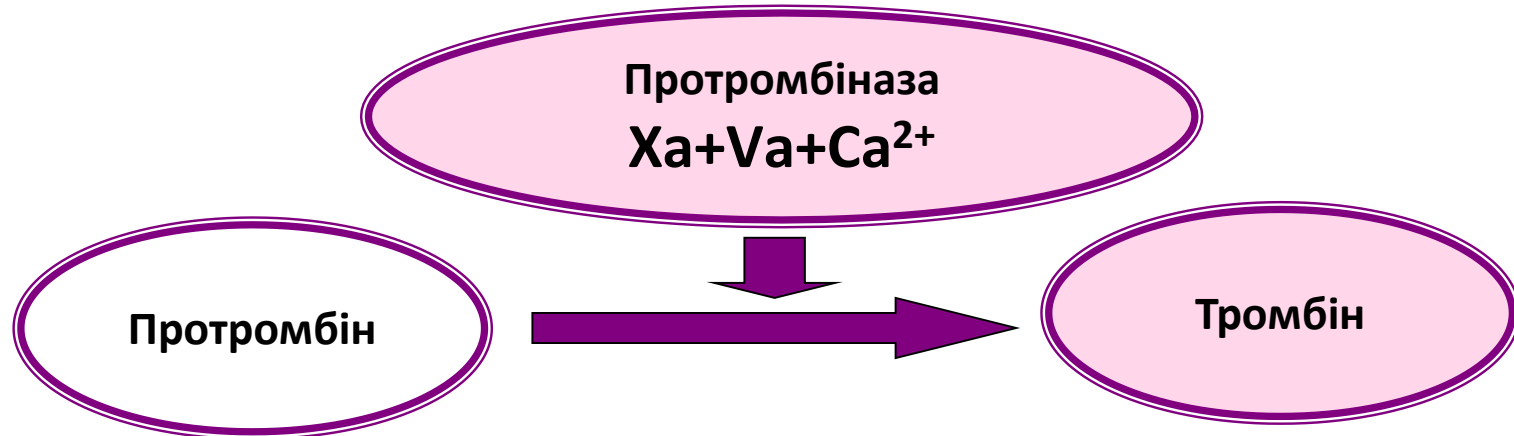
IXa + VIIIa + Ca²⁺



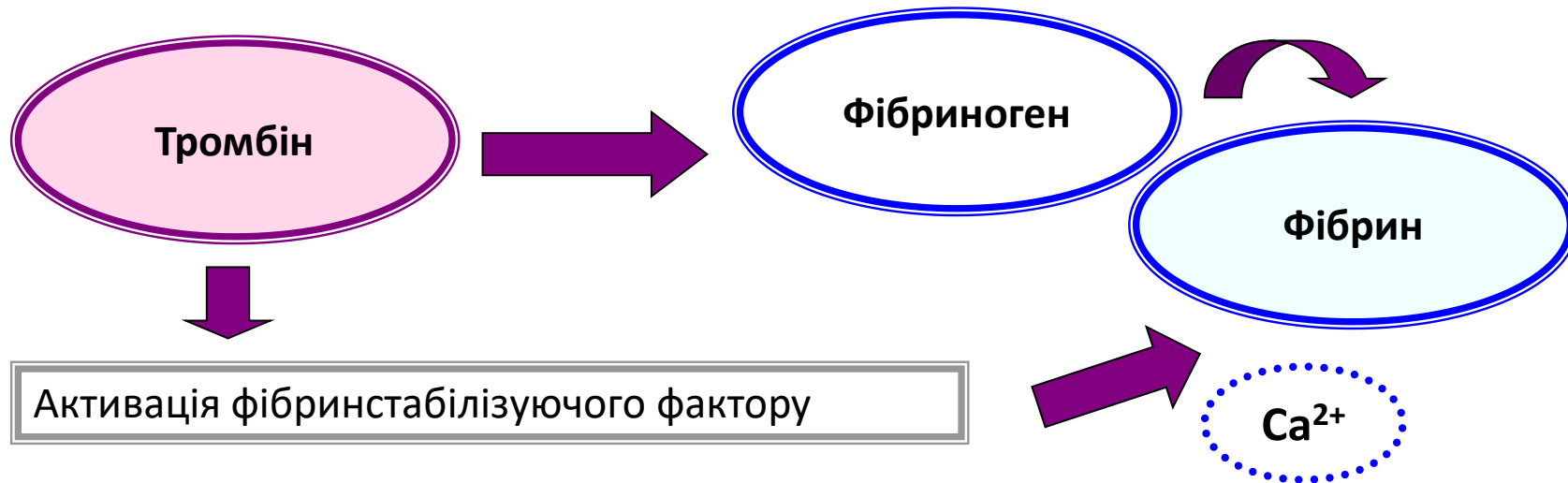
X → Xa

Протромбіназа
Xa+Va+Ca²⁺

II. Утворення тромбіну



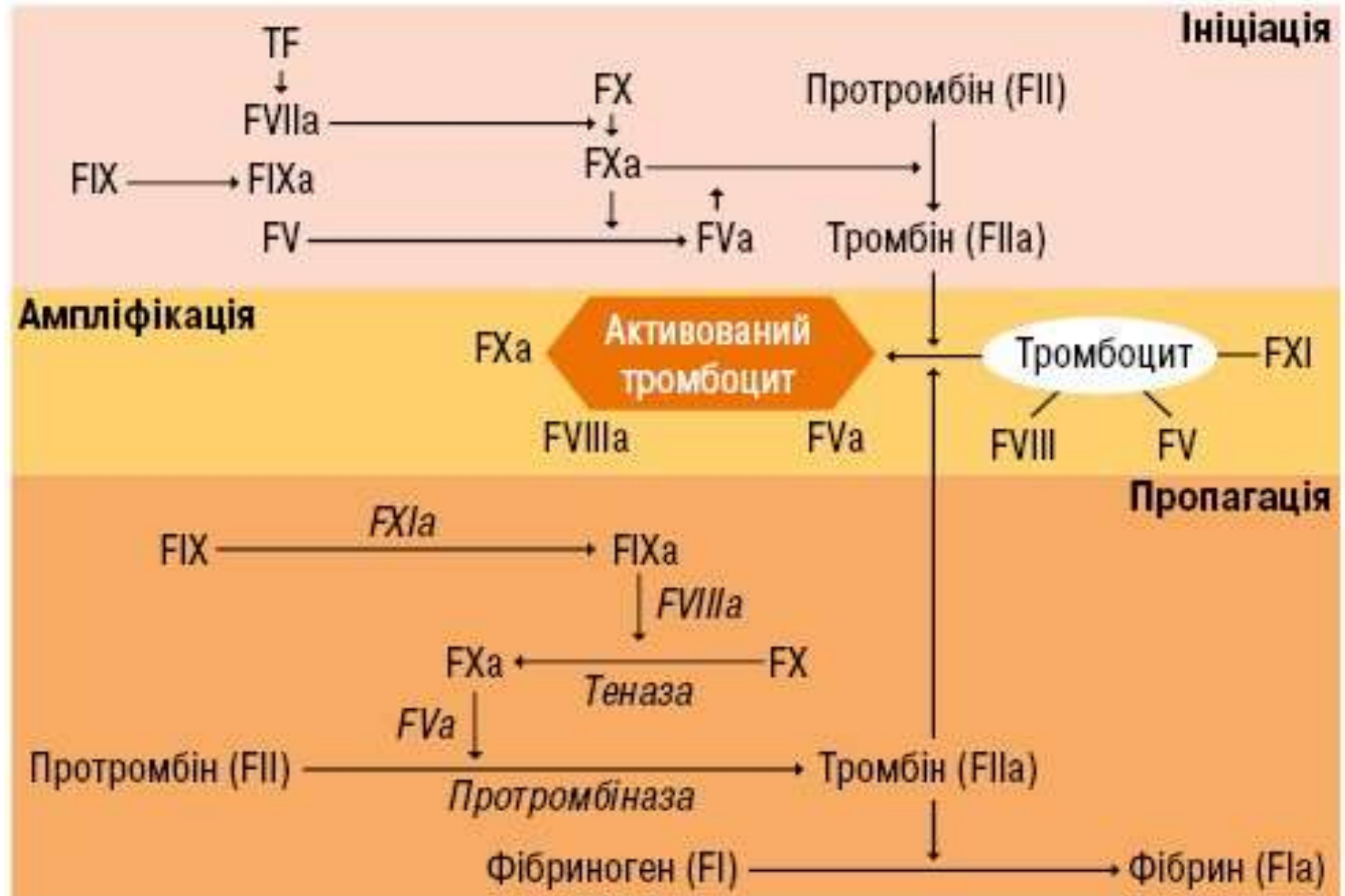
III. Утворення фібрину



Клітинна модель гемостазу

Фази згортання крові:

- ініціація (initiation)
- посилення (amplification)
-
- тромбіновий вибух**
- поширення (propagation)



Вітамін К-залежні білки

- **Вітамін К-залежні білки** – фактори коагуляції II (протромбін), VII (проконвертин), IX (антигемофільний глобулін В, фактор Крістмаса), X (тромботропін, фактор Стюарта-Прауєра).
- Синтез цих факторів відбувається в печінці і потребує вітаміна К для післятрансляційного утворення гамма-карбоксиглутамінової кислоти, що необхідно для зв'язування йонів кальцію.

До генетичних аномалій, пов'язаних з порушенням утворення вітамін-К-залежних факторів відноситься

- ✓ гемофілія В (хвороба Крістмаса),
 - ✓ хвороба Стюарта-Прауера (дефіцит фактора X),
 - ✓ гіпо (дис-) протомбінемія – зниження синтезу бо аномалією фактора II
- Клінічно ці захворювання проявляються кровоточивістю мікроциркуляторного типу – петехії, синці, носові та ясневі кровотечі, важкі кровотечі після хірургічних втручань.



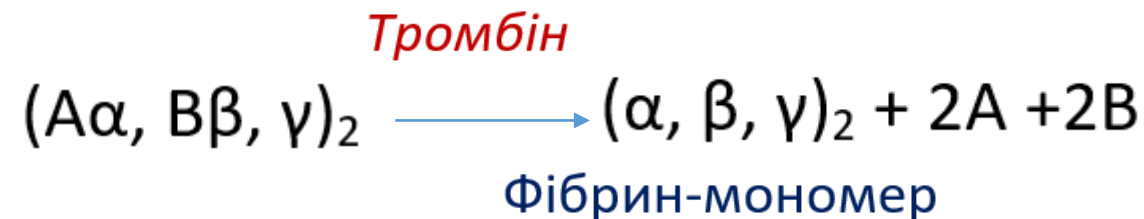
Фактори контакту (кофакторні білки)

- Фактори контакту (кофакторні білки) - фактори XII (контактний фактор Хагемана), XI (попередник плазмового тромбопластину), прекалікреїн (фактор Флетчера) , високомолекулярний кініноген (фактор Фітцджеральда).
- Ці білки також синтезуються в печінці, основна їх роль полягає в активації згортання крові під час контакту з негативно зарядженою поверхнею (мембрани клітин).
- Дефіцит фактора Хагемана проявляється значним подовженням часу згортання крові за відсутності геморагічних проявів.
- Дефіцит фактора XI – гемофілія C – проявляється помірною спонтанною кровоточивістю у формі носових кровотеч, синців, тривалими кровотечами при хірургічних втручаннях.

Фібриноген (вміст в крові 2-4 г/л)

Фактор I (тромбінзалежний)

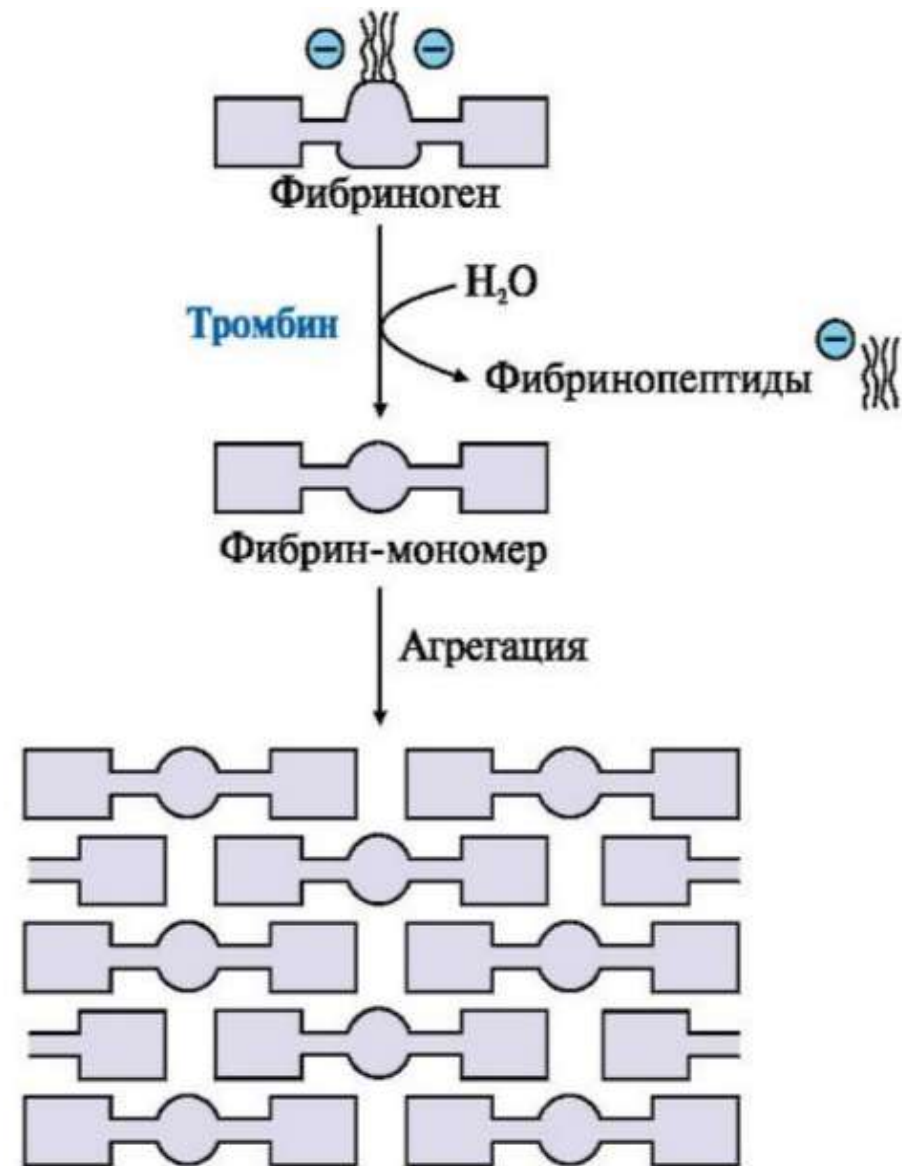
- Розчинний глікопротеїн, який складається з 6 поліпептидних ланцюгів – 2 А α -, 2В β - та 2 γ -ланцюги. Ці поліпептидні ланцюги зв'язані трьома дисульфідними зв'язками. N-кінцеві ділянки ланцюгів мають значний негативний заряд (за рахунок великого вмісту аспарагінової та глутамінової кислот), що підвищує розчинність молекули фібриногену та запобігає агрегації з іншими молекулами фібриногену.
- Під дією тромбіну від N-кінця відщеплюються 4 пептиди – два А та два В. Довгі нерозчинні молекули асоціюють у регулярні зигзагоподібні структури, внаслідок чого утворюється нерозчинний фібриновий згусток



Фібрин-полімер



Сітка фібрину

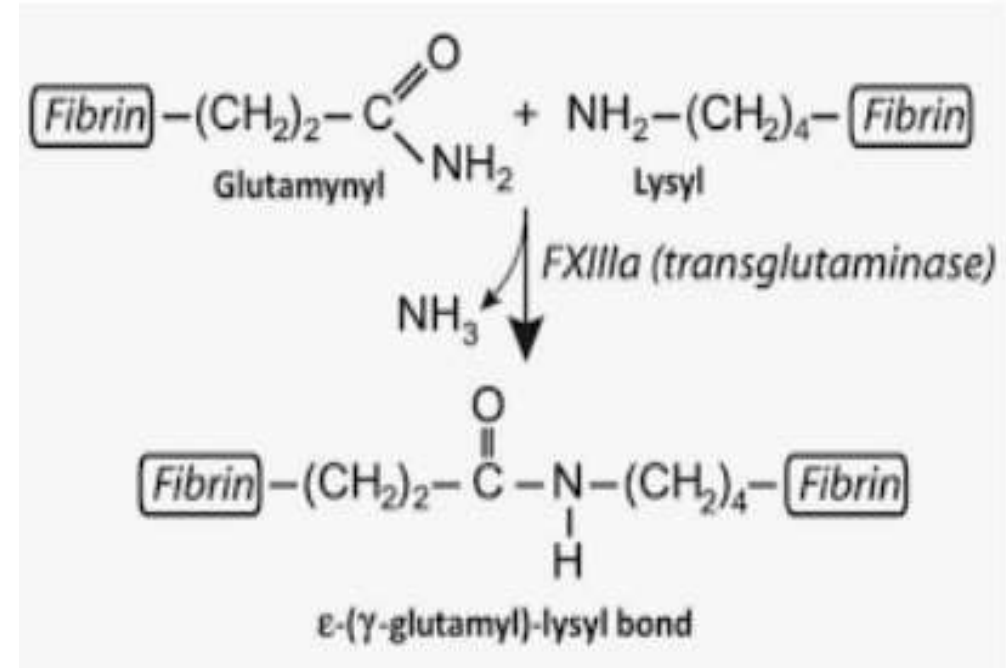


Патологія

- *Спадкова а-(гіпо-)фібриногенемія* проявляється помірною кровоточивістю, петехіями, синцями, подовженням часу кровотечі після порізів, екстракції зуба.
- *Гіперфібриногенемія* – значне підвищення вмісту фібриногену буває при запаленні, сепсисі, пухлинах, що збільшує ризик тромбозів.

Тромбінзалежні білки – фактори XIII (фібринстабілізуючий фактор), V (проакцелерин).

- **Фактор XIII (фібринстабілізуючий фактор, трансглутаміназа)** – активується тромбіном, утворює зшивки між фібрин-мономерами за рахунок специфічного ізопептидного зв'язку між гама-карбоксильною групою глутаміну та ε-аміногрупою лізину. Така стабілізація фібринового згортка сприяє його ретракції.
- Недостатність фактора XIII виявляється при різних патологічних станах – у гематоонкологічних хворих, при всіх формах лейкозів, при захворюваннях печінки та ін.
- **Фактор V (проакцелерин)** – це прокофактор, якій під дією тромбіну перетворюється на активний фактор Va, необхідний для швидкого перетворення протромбіну в тромбін.
- Дефіцит фактора V – парагемофілія,
- Мутація фактора V Лейден – тромбофілія.



Фактор VIII (антигемофільний глобулін А)

- **Фактор VIII (антигемофільний глобулін А)** – це прокофактор, складний глікопротеїн, синтезується в печінці та в інших тканинах. Фактор VIII циркулює в крові, зв'язаний з фактором Віллебранда.
- Фактор Віллебранда – великий глікопротеїн (продукується мегакаріоцитами та ендотеліальними клітинами), який зв'язує фактор VIII, стабілізує його молекулу і забезпечує його накопичення в місці ураження судин. Оскільки фактор Віллебранда зв'язується з ендотеліальними клітинами та тромбоцитами, він постачає фактор VIII саме у місце пошкодження. Під дією тромбіну фактор VIII відділяється від фактору Віллебранда і активується, а також він активується під дією факторів Xа та IXа в присутності іонів кальцію та фосфоліпідів (більш повільно).
- Фактор VIIIа прискорює активацію фактора X за участю IXа.
- **Спадковий дефіцит фактору VIII – гемофілія А.**

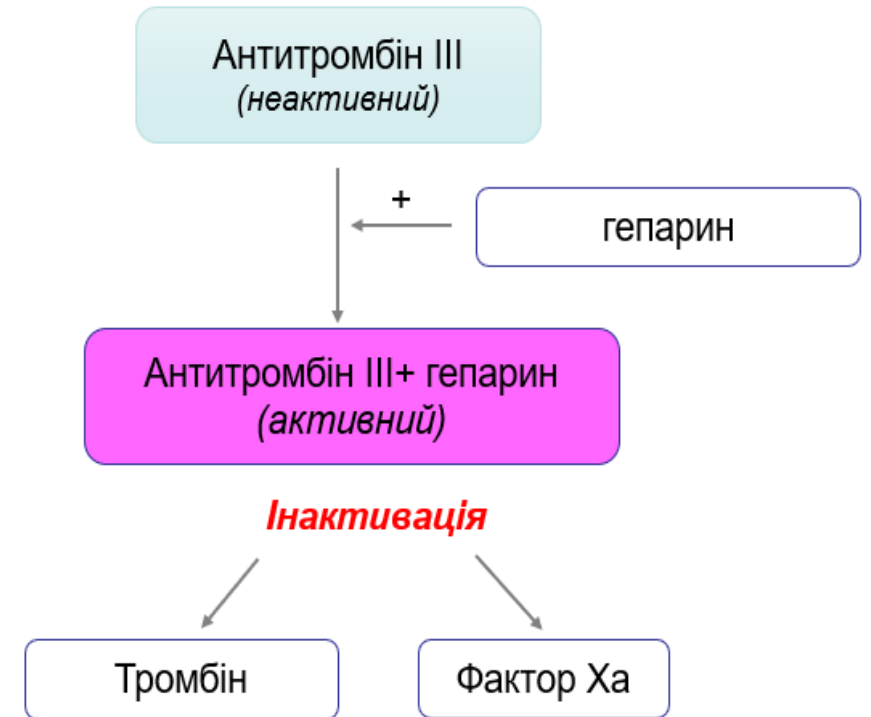


Інгібітори згортання крові

- ❖ **Серпіни (СЕРинових Протеїназ ІНгібитори)**
антитромбін III
гепариновий кофактор II
протеїн С, протеїн S
 α 1-антитрипсин
- ❖ **Куніни**(білки, гомологічні інгібітору трипсина)
інгібітори шляху тканинного фактору
- ❖ **α 2-Макроглобулін** – інгібітор – «сміттяр»
інгібуєт тромбін та інші протеїнази

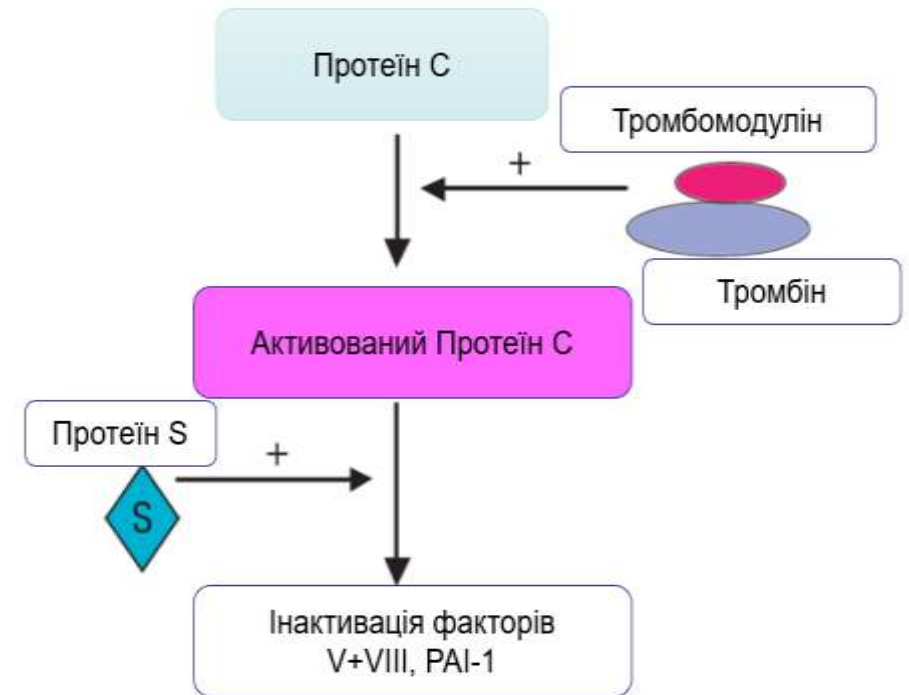
Антитромбін III

- Антитромбін III – глікопротеїн, синтезується в печінці.
- Блокує тромбін за рахунок зв'язування з серином в активному центрі ферменту.
- Активність антитромбіну III збільшує гепарин.
- Гепарин взаємодіє зі специфічною катіонною ділянкою АТ III і викликає зміну його конформації, зв'язує тромбін і зближує його з АТ III, утворюється потрійний комплекс АТIII-тромбін-гепарин, після інактивації тромбіну гепарин вивільнюється в незміненому вигляді.
- АТ III інактивує також фактори **IXa, Xa, XIa, XIIa**.
- При дефіциті АТ III ризик тромбозів значно зростає - вкрай важкий дефіцит - АТIII біля 5% викликає летальні тромбоемболії та інфаркти в перші роки життя.



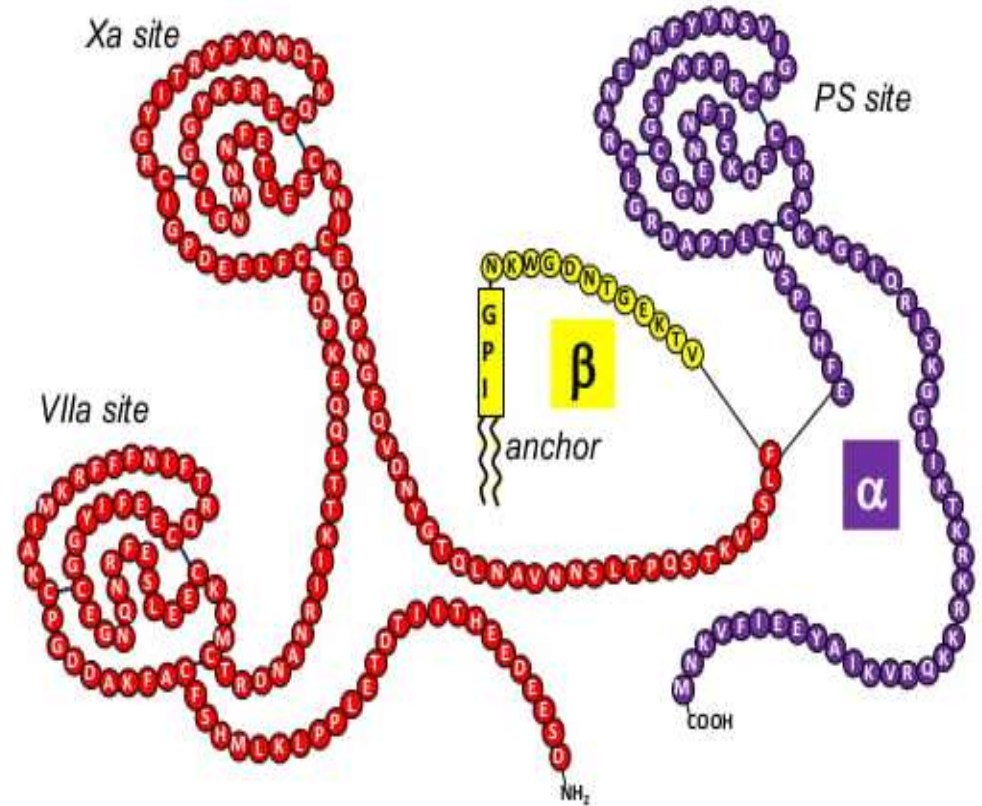
Протеїн С та протеїн S

- Протеїн С та його кофактор протеїн S – вітамін-К-залежні білки, синтезуються в печінці.
- Протеїн С активується під дією комплексу тромбін-тромбомодулін, активований протеїн С розщеплює та інактивує фактор Va та VIIIa.
- При спадковій мутації в гені фактору V Лейден утворюється білок, не чутливий до дії активованого протеїну С, що приводить до посилення процесів коагуляції. Ризик венозних тромбозів та інфаркту міокарду у гомозиготних носіїв мутації фактору Лейден зростає в 50-80 разів, у гетерозигот – в 5-10 разів.
- Набута резистентність до активованого протеїну С виникає при антифосфоліпідному синдромі.



Куніни – білки, гомологічні інгібітору панкреатичного трипсину - інгібітори шляху тканинного фактору.

- **Інгібітор шляху тканинного фактору - TFPI** (Tissue factor pathway inhibitor) зв'язує фактори **Xa, VIIa і тканинний фактор (TF)**.
- При цьому утворюється комплекс, який інактивує активні форми факторів зсідання крові і, таким чином, обмежує коагуляцію.
- Синтезується ендотелієм



- ✓ Тканинний фактор (TF) синтезується на внутрішній поверхні судинної стінки
- ✓ Синтез TF зростає при атеросклерозі судин, запаленні, інфекційному процесі, пухлинних захворюваннях
- ✓ Інгібітор шляху тканинного фактору (TFPI) регулює гемостаз, зменшує тромбоутворення, впливає на процеси синтезу цитокінів, хемокінів, пухлинного росту

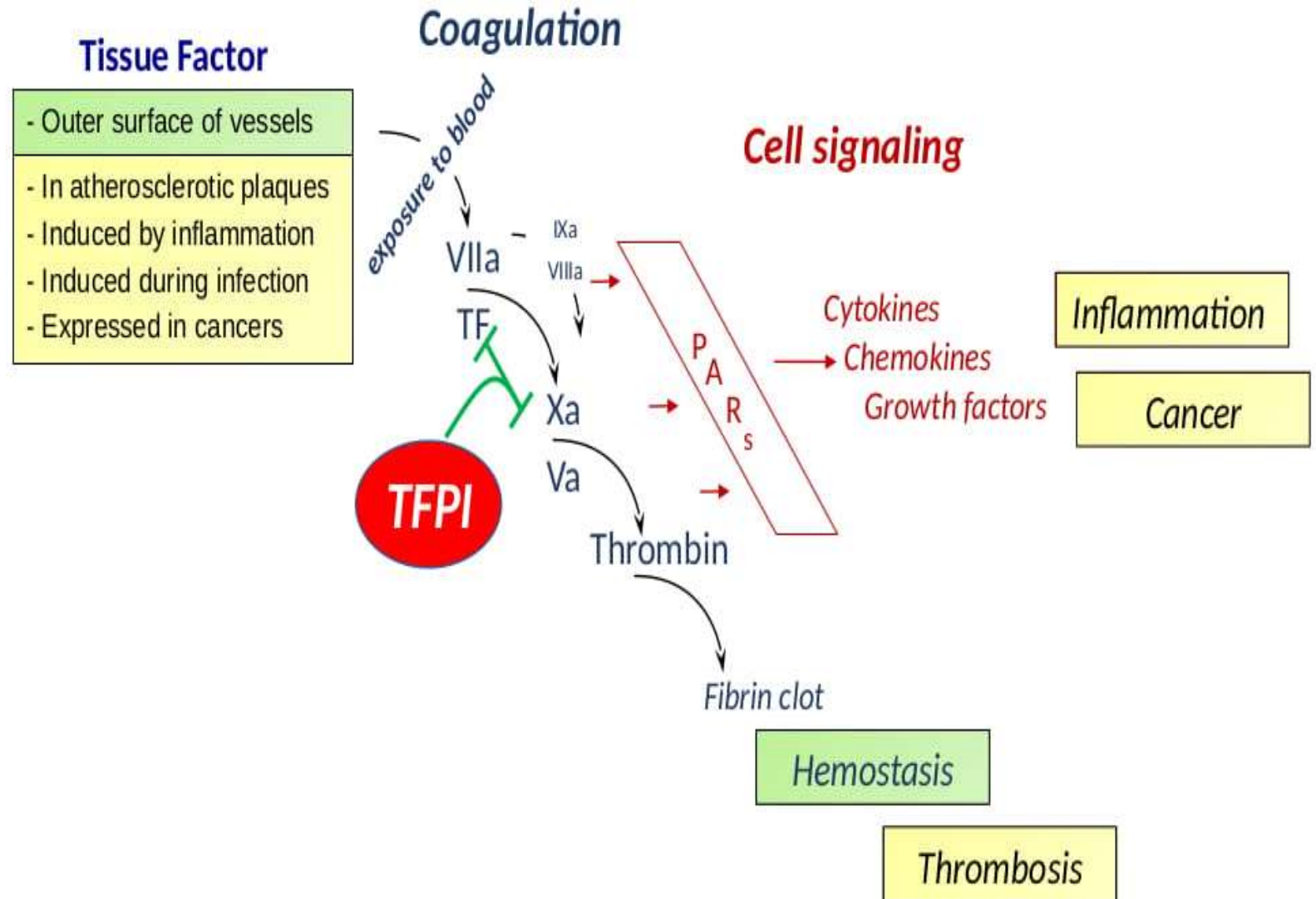


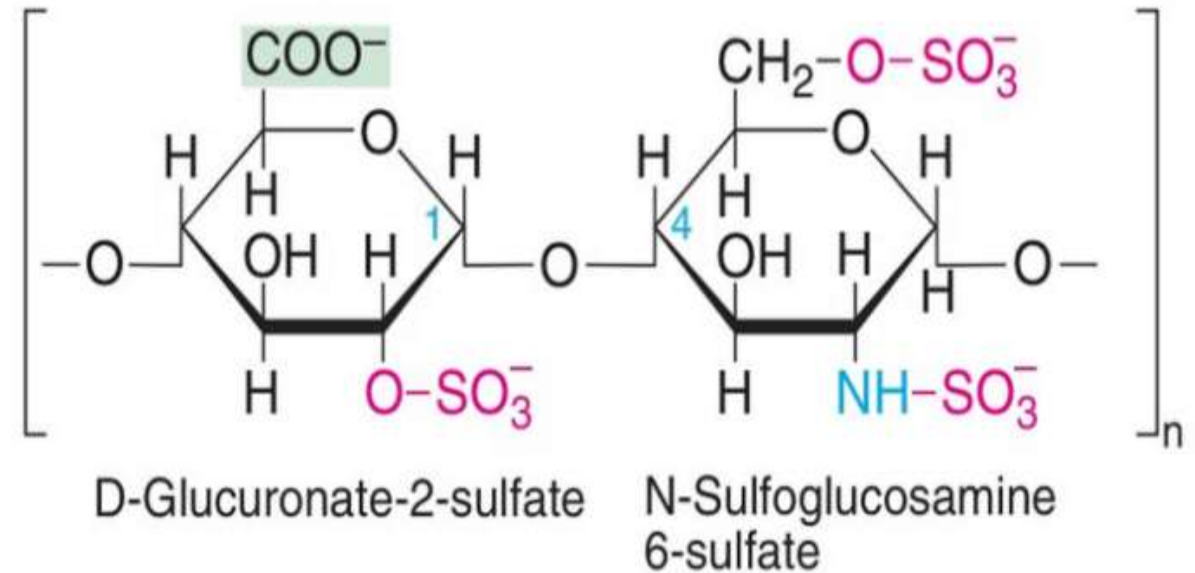
Figure 1. TFPI regulates hemostasis and influences thrombosis, inflammatory and cancer pathologies.

<https://dipaolalab.wustl.edu/research/basic-hemostasis/tissue-factor-pathway-inhibitor/>

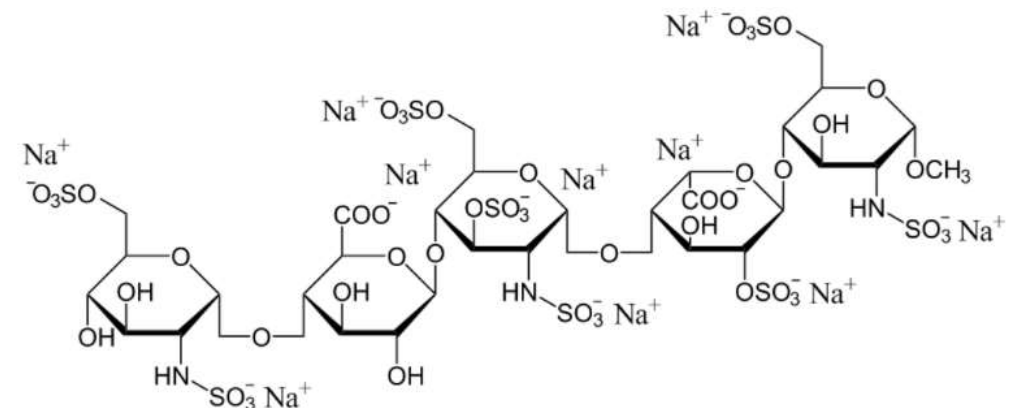
Гепарин

- Гепарин — сульфатований глікозаміноглікан. Похідне D-глікозаміну і L-ідуронової кислоти або D-глюкуронової кислоти. Молекулярна маса - 10 - 20 кД
- Вивільняється з тканинних базофілів, базофілів крові, наявний у багатьох тканинах, зокрема, в печінці, легенях, скелетних м'язах.
- Природний антикоагулянт, активатор антитромбіну III.
- Інгібує агрегацію тромбоцитів і лейкоцитів, знижує проникність ендотелію

Гепарин



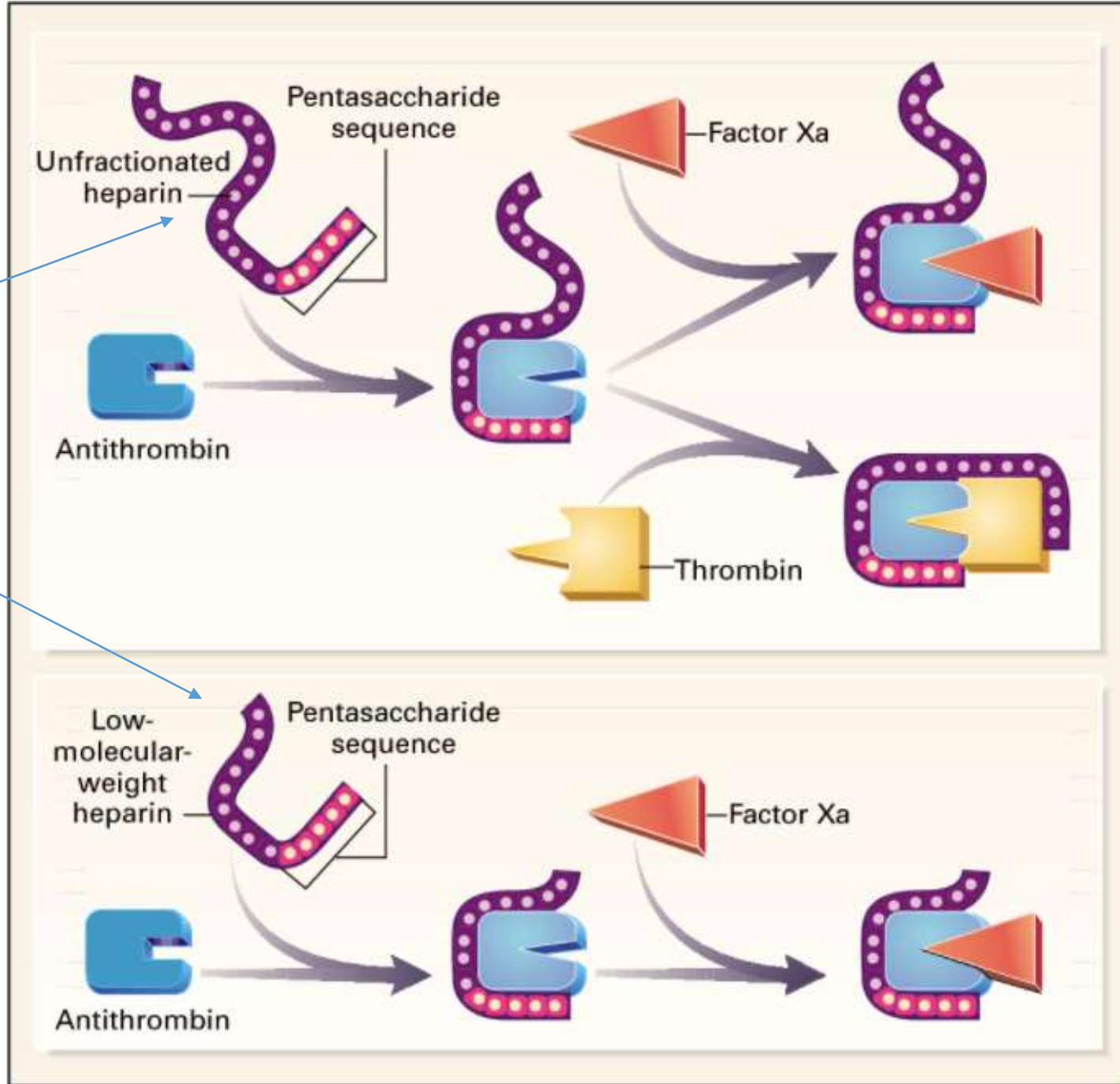
Низькомолекулярний гепарин



Механізм антикоагулянтної дії гепарину

- Нефракціонованого

- Низькомолекулярного



Фібриноліз

(попереджає та обмежує тромбоутворення)

Фібринолітична

активність плазми

плазміноген (профермент)
плазмін (фермент)
активатори плазміногену
інгібітори плазміну

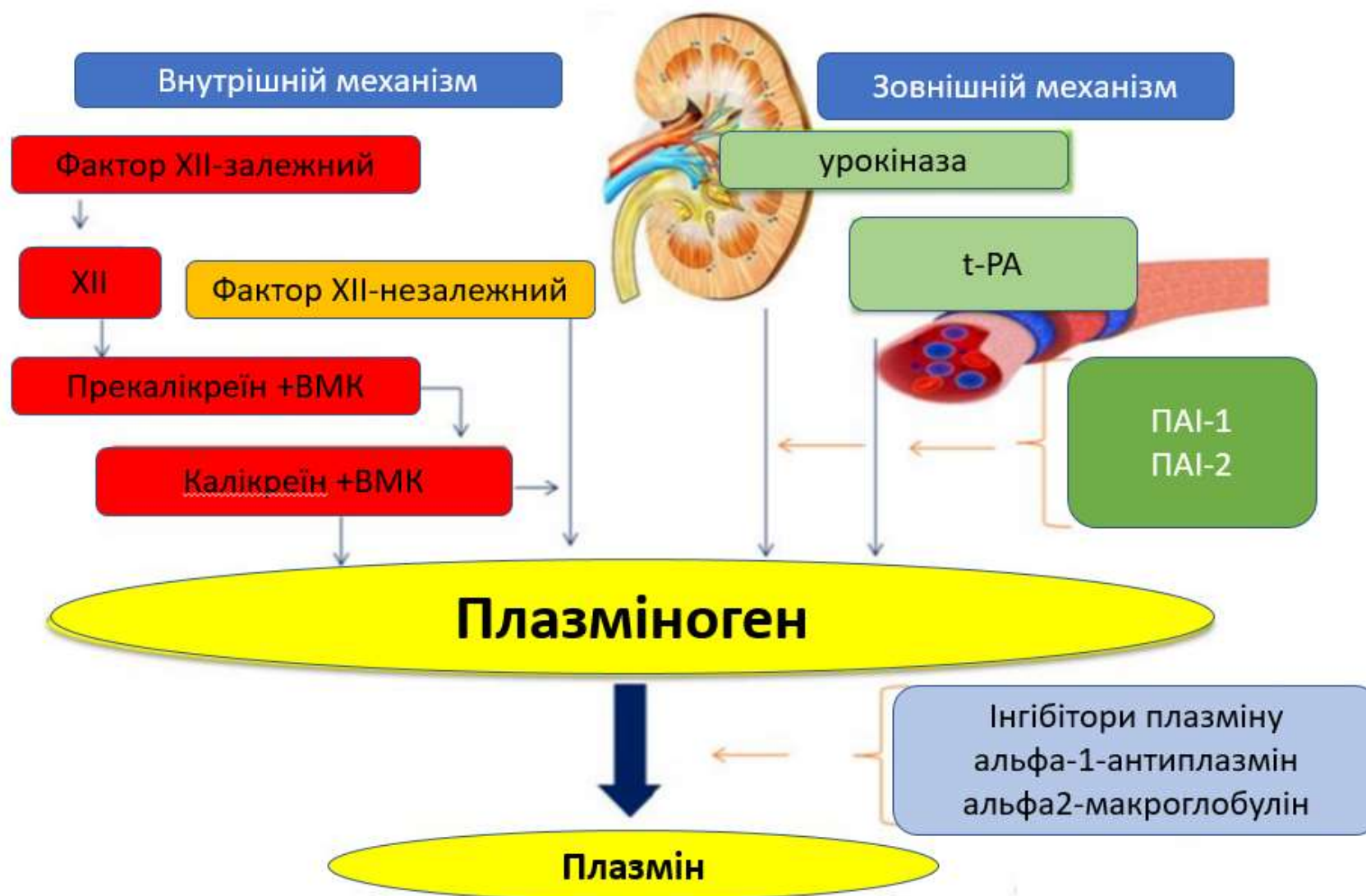
Клітинний фібриноліз -

лейкоцити, макрофаги
тромбоцити виділяють
естерази і фагоцитують
фібрин

Компоненти системи фібринолізу

- ❖ Плазміноген (профермент)
- ❖ Плазмін (активований плазміноген)
- ❖ Активатори - тканинний активатор плазміногену, урокіназа
- ❖ Інгібітори – α 2-антиплазмін, альфа-2-макроглобулін
- ❖ Специфічні інгібітори:
- ❖ PAI-1 – інгібітор активатора плазміногену 1,
- ❖ TAFI – нгібітор фібринолізу, що активується тромбіном

Зовнішній та внутрішній механізми активації фібринолізу та їх інгібування



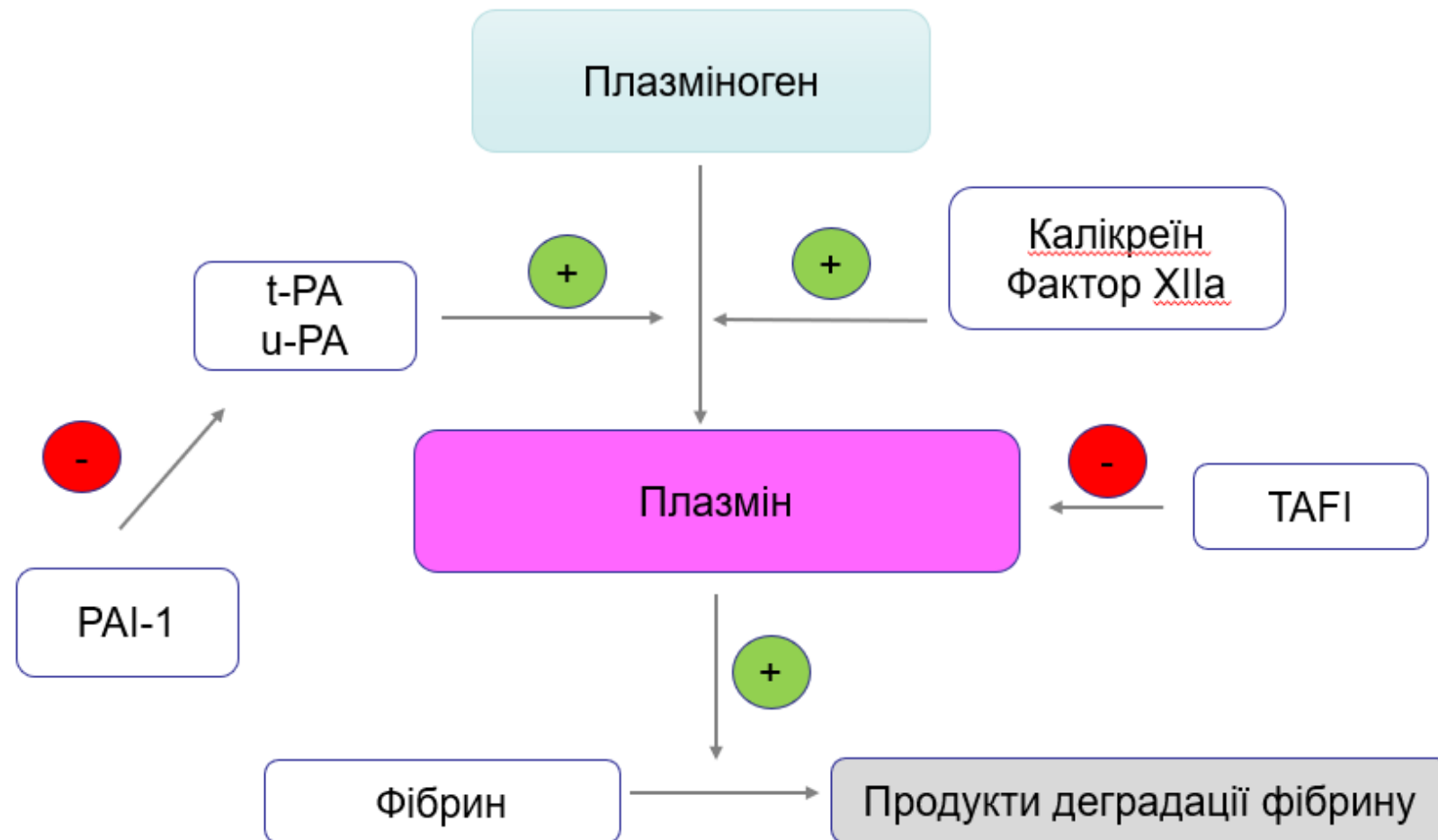
Регуляція утворення плазміну

Інгібітори:

- PAI-1 – інгібітор активатора плазміногену 1
- TAFI – інгібітор фібринолізу, що активується тромбіном
- альфа-2-антиплазмін

Активатори:

- t-PA (ТАП) - тканинний активатор плазміногену
u-PA - урокіназа



Надмірному фібринолізу перешкоджають білкові інгібітори – глікопротеїн α_2 -антиплазмін і інгібітор фібринолізу, що активується тромбіном (TAFI). Спадковий дефіцит α_2 -антиплазміну приводить до кровоточивості.

Table 1. Summary of fibrin-bound antifibrinolytic proteins alpha-2 antiplasmin (α_2 AP), thrombin activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI), complement C3, and plasminogen activator inhibitor-2 (PAI-2).

	α_2 AP	TAFI	C3	PAI-2
Mass (kDa)	~70	56	187	47
Human gene	<i>SERPINF2</i>	<i>CPB2</i>	C3	<i>SERPINB2</i>
Synthesis/expression	Liver, kidney, and brain	Liver and megakaryocytes	Liver and immune cells	Monocytes, macrophages, keratinocytes, fibroblasts, and placenta
Circulating plasma concentration	70 μ g/mL	4–15 μ g/mL	1.2 mg/mL	Below detection limit
Antifibrinolytic function	Direct binding to, and inhibition of, plasmin and cross-linking into the clot making it more resistant to lysis	Protects the clot from lysis by cleaving off C-terminal lysine residues from fibrin, which reduces plasminogen and tPA binding and subsequent plasmin generation	Incorporation into the fibrin clot causes prolongation of fibrinolysis	Cross-linking into fibrin at a site close to tPA binding site affects fibrin clot lysis

Тріада Вірхова

```
graph TD; A[Тріада Вірхова] --> B[Пошкодження ендотелію судин  
(травматизація, атеросклероз, запалення)]; A --> C[Порушення гемореології  
(стаз крові, серцева недостатність)]; A --> D[Збільшення коагуляційного потенціалу  
(гіперкоагуляція)]; B --- E{ }; C --- E; D --- E; E --> F(Тромбоз);
```

The diagram illustrates Virchow's Triad, a concept in medicine. At the top, a purple-bordered box contains the title 'Тріада Вірхова'. A central purple arrow points down to three colored boxes: yellow on the left, orange in the middle, and light green on the right. Each box contains a component of the triad and its associated conditions. A purple bracket groups these three boxes, with a large purple arrow pointing down to a pink oval at the bottom labeled 'Тромбоз'. Curved purple arrows on the left and right sides of the top box indicate a cyclical relationship between the components.

**Пошкодження
ендотелію судин**

(травматизація,
атеросклероз,
запалення)

**Порушення
гемореології**

(стаз крові,
серцева
недостатність)

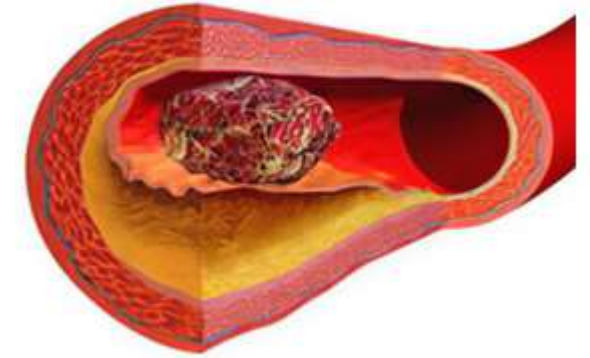
**Збільшення
коагуляційного
потенціалу**

(гіперкоагуляція)

Тромбоз

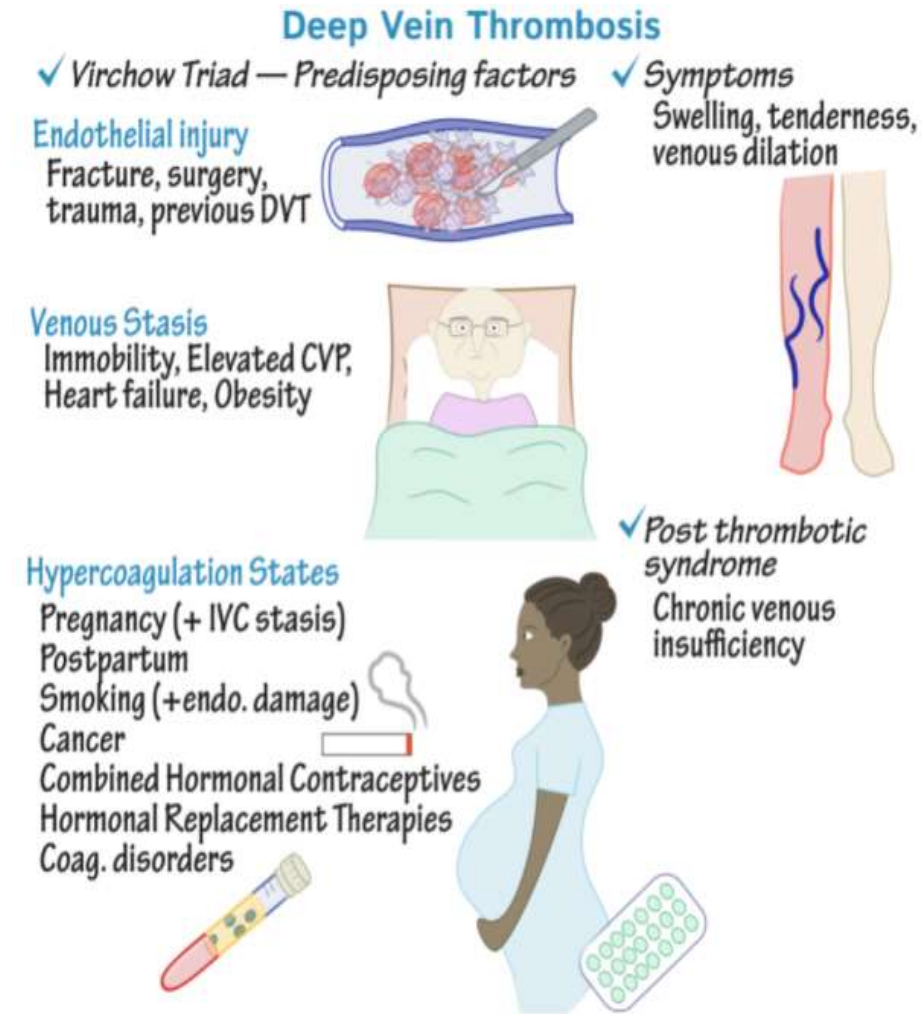
Тромбофілія – це підвищена схильність до спонтанного тромбоутворення в судинах, в основі якої лежать порушення в різних ланках системи гемостазу та порушення гемореології.

Гіперкоагуляційний синдром - коагулопатія з лабораторними ознаками прискореного згортання крові, при цьому тромбозів в артеріальному та венозному руслі не виявляється (“тромб на кінці голки”)



Клінічні ознаки тромбофілій

- 🔴 Спонтанні тромбози (при відсутності ситуацій ризику - оперативних втручань, іммобілізації)
- 🔴 Тромбози незвичної локалізації (судини верхніх кінцівок, мезентеріальних, ниркових, церебральних вен)
- 🔴 Ранній перший маніфест тромбозу (до 45 років)
- 🔴 Рецидиви тромбозів
- 🔴 Тромбози на тлі прийому антикоагулянтів
- 🔴 Сімейний анамнез – випадки тромбозів у членів сім'ї
- 🔴 Схильність до спонтанних абортів (невиношування вагітності)
- 🔴 ТЕЛА, підтверджена ангіографією, венографією
- 🔴 Злоякісна пурпура новонароджених, масивний тромбоз у неонатальному періоді



Форми тромбофілій

- 1. Гемореологічні** (підвищення в'язкості крові): *поліглобулінемії, поліцитемії, гемоглобинопатії*
- 2. Порушення судинно-тромбоцитарного гемостазу:** *гіпертромбоцитози, "синдром липких тромбоцитів" та ін.*
- 3. Дефіцит або аномалії первинних антикоагулянтів:** *антитромбіну III, протеїну C, протеїну S, тромбомодуліну*
- 4. Дефіцит або аномалії окремих плазмових факторів коагуляції** (*фактор V Leiden, РАПС, поліморфізм протромбіну, тромбогенні дисфібриногенемії*) та фібринолізу (*плазміногену, підвищення рівня PAI-1, PAI-2*)
- 5. Підвищення рівня / активація факторів зсідання крові:** *фактору VIII, гіперфібриногенемії*

- 6. Аутоімунні та інфекційно-імунні тромбофілії** (*антифосфоліпідний синдром, імунні тромбоваскуліти, сепсис*)
- 7. Паранеопластичні форми**
- 8. Метаболічні форми** (*комплекс порушень в різних ланках гемостазу*)
 - *Діабет та діабетична ангіопатія*
 - *Гіперліпідемії*
 - *Гіпергомоцистеїнемія: генетично-детемінована (рання), набута (пізня).*
 - *Гіперурикемія (вроджена, вторинна)*
- 9. Ятрогенні форми**
 - *при катетеризації, стентування та шунтування судин, протезування клапанів, імплантація қава-фільтрів, тромбоектомія*
 - *при трансплантації кісткового мозку, гемотерапії*
 - *медикаментозні форми (естрогенні контрацептиви, гемостатична терапія, прийом антикоагулянтів - кумаринові некрози шкіри), інгібітори фібринолізу*

Генетичні фактори ризику тромбозів

Поліморфізм по рецепторам тромбоцитів –
глікопротеїнам GPIIIa (Leu33Pro) PIA1/PIA2, GPIIb (HPA-3), GP VI (T13254C)

Поліморфізм по факторам згортання крові та фібринолізу

- Лейденська мутація по фактору V (G1691A)
- поліморфізм протромбіну (G20210A), фактору VII (G10976A), фібриногену (G455A, T313A),
- PAI-1 (вставка /делеція 4G/5G в промоторі).

Дефіцит інгібіторів згортання крові - протеїну C та S, антитромбіну III, дефіцит або аномалія тромбомодуліну (C1481T).

Поліморфізм або мутації ферментів обміну гомоцистеїну та фолієвої кислоти –

- МТГФР (C677T; A1298C; A1793G)
- цистатіонин-β-синтаза (G919A и T833C).

Молекулярні механізми тромбофілій

Мутація		Механізм
<p>Фактор V (Лейден) G1691A</p>	<p>Гуанін → Аденін (1691), у FV - Аргінін → Глутамін (506) Аутосомно-домінантний тип</p>	<p>Фактор V Лейден не інактивується протеїном C → резистентність до активованого протеїну C (РАПС), → гіперактивація протромбіназного комплексу, підвищення рівня тромбіну</p>
<p>Протромбін G20210 A</p>	<p>Гуанін → Аденін (20210) в некодуючій ділянці ДНК Аутосомно-домінантний тип</p>	<p>Підвищення рівня протромбіну в крові, Підвищення коагуляційного потенціалу плазми крові</p>
<p>МТГФР C677T</p>	<p>Цитозин → Тимін (677) Валін → Аланін (222) Аутосомно-рецесивний тип</p>	<p>Поява термолабільної форми ферменту МТГФР з низькою каталітичною активністю → порушення обміну гомоцистеїну (ГГЦ) → ураження судин, активація тромбоцитів</p>

Частота протромботичних мутацій

Протромботичені мутації	Частота		Збільшення ризику тромбозів
	в популяції	у хворих з тромбозами	
Протромбін G20210 A	1-4% (Європа)	20%	3-5 рази
Фактор V Лейден G1691A	2-7% (Європа)	30-40%	5-10 рази (у гомозигот в 50- 80 рази)
МТГФР C677T	5-55%	10-60%	2-3 рази (якщо рівень гомоцистеїну перевищує 15 мкмоль /л)

Лабораторна оцінка стану системи гемостазу



МАТЕРІАЛ ДЛЯ ДОСЛІДЖЕННЯ СТАНУ СИСТЕМИ ГЕМОСТАЗУ

Венозна кров, стабілізована 3,8%
р-ном цитрату натрія (9:1)



Центрифугування
10 хв 1000 об/хв
ПБТ (плазма багата
тромбоцитами)



Агрегація тромбоцитів



Центрифугування
25 хв 3000 об/хв
ПБТ (плазма бідна
тромбоцитами)



Коагулограма



Тести для діагностики тромбофілій

Тести для оцінки
стану системи
гемостазу

Тести, для виявлення
причин тромбофілії

Виявляють порушення
в системі гемостазу та
ризик тромбозу на час
дослідження,
Вирішення питання
про антикоагулянти

Антигенні тести –
визначення
концентрації
факторі системи
гемостазу
(ІФА, радіоимунні
методи)

Молекулярно-
генетичені
методи
(ПЛР)

не дають відповідь
щодо причини тромбофілії

не дають відповідь про стан системи
гемостазу на момент дослідження

Коагулометри



Експрес-коагулометр портативний



Скринінгові тести

Тести	Значение
Активованний частковий тромбопластиновий час (АЧТЧ) - 25-35 с (кефалін-каоліновий час)	Характеристика процесу активації факторів внутрішнього шляху зсідання крові. Виявлення дисбалансу між про- та антикоагулянтами.
Протромбіновий час (ПЧ) - 13-18 с	Характеристика процесу активації факторів зовнішнього шляху зсідання крові (II, V, VII, X). Виявлення дисбалансу "про-/антикоагулянти"
Тромбіновий час -15-25 с	Характеристика кінцевого етапу згортання крові (перетворення фібриногену на фібрин). Виявлення гіпофібриногенемії та інгібіторів дії тромбіну.
Фібриноген – 2,2-3,2 г/л	Виявлення гіпо- чи гіпер-фібриногенемії
Час лізису фракції еуглобулінів, 150 – 300 хв	Загальна фібринолітична активність плазми крові

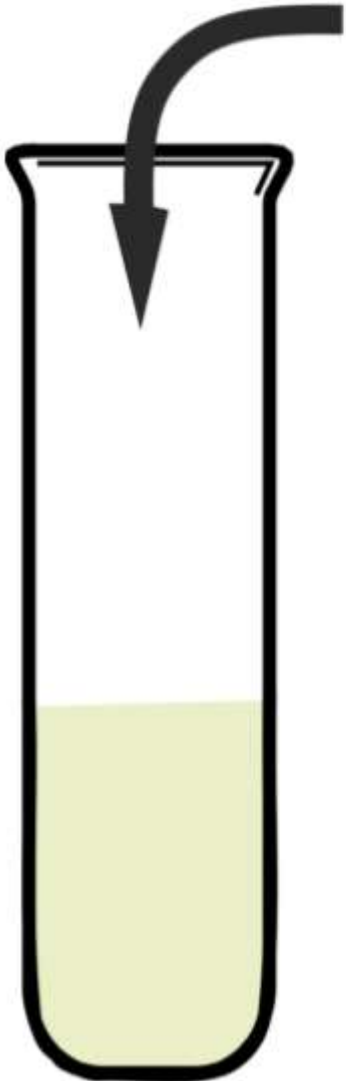
Prothrombin Time [PT]

Platelet Poor Plasma [PPP]
+ Tissue Factor [TF]
+ Phospholipid

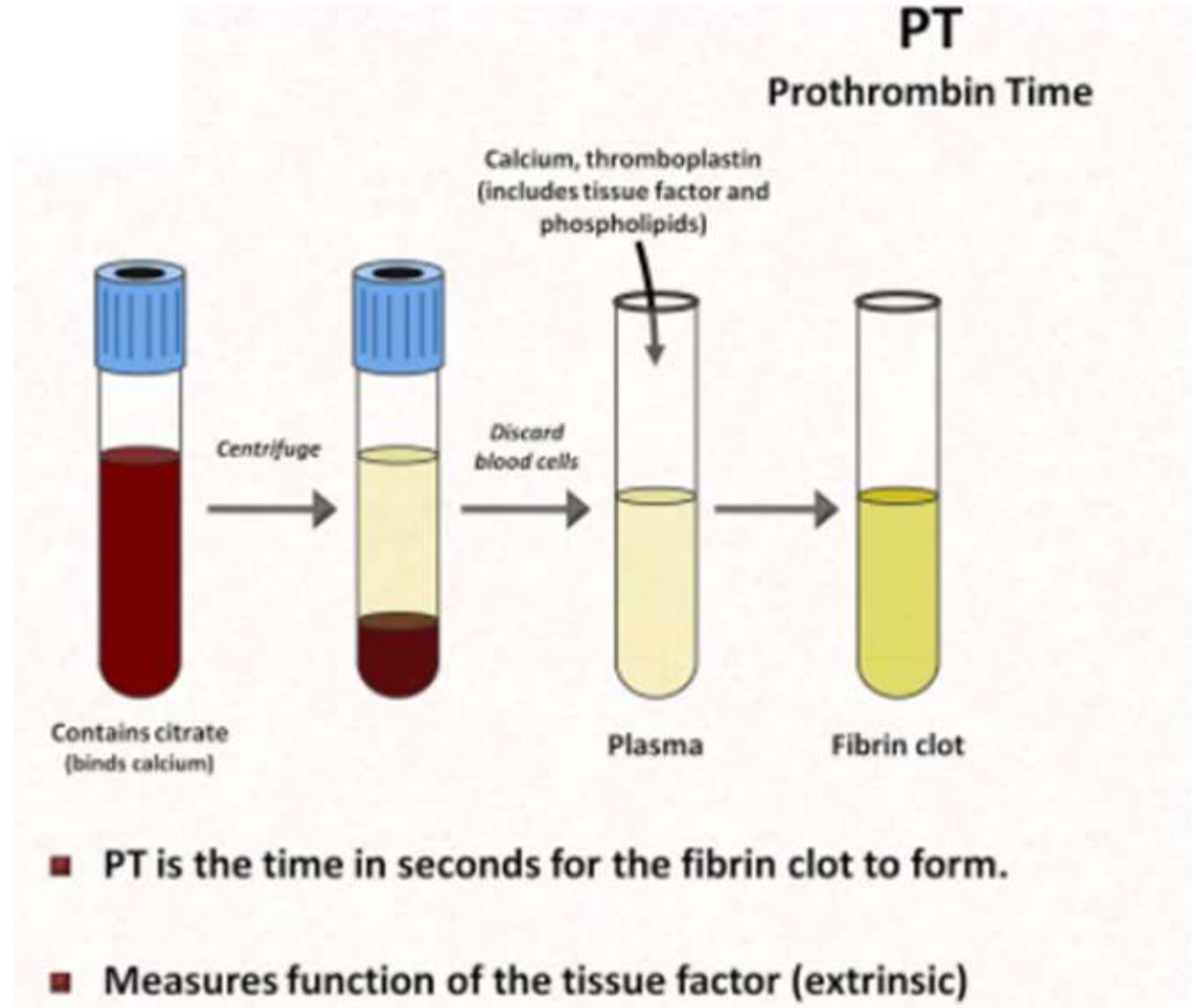
→ Incubate at 37°C

+ Calcium

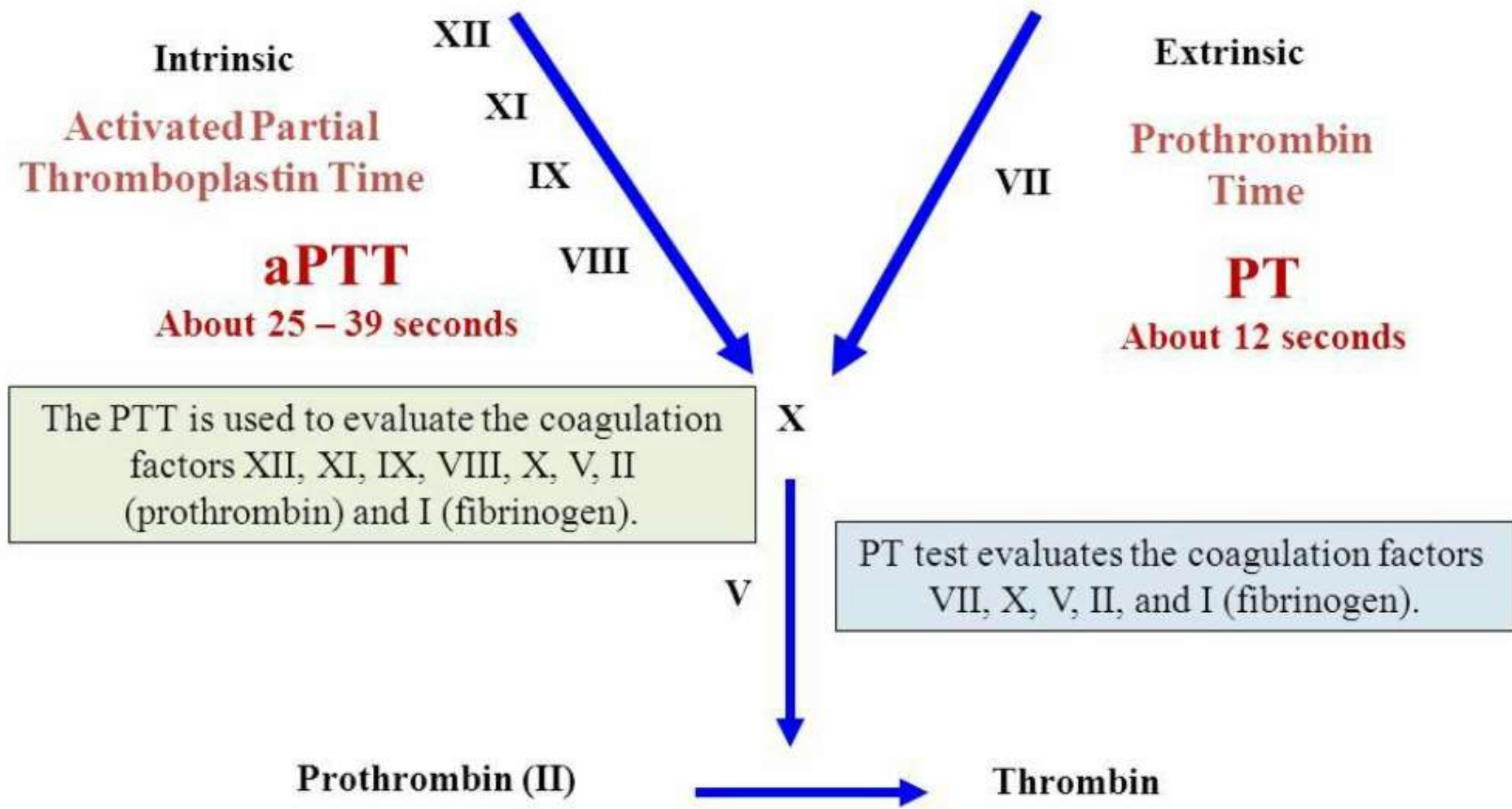
→ Record Clotting Time



Протромбіновий час



Tests of Clotting Pathway



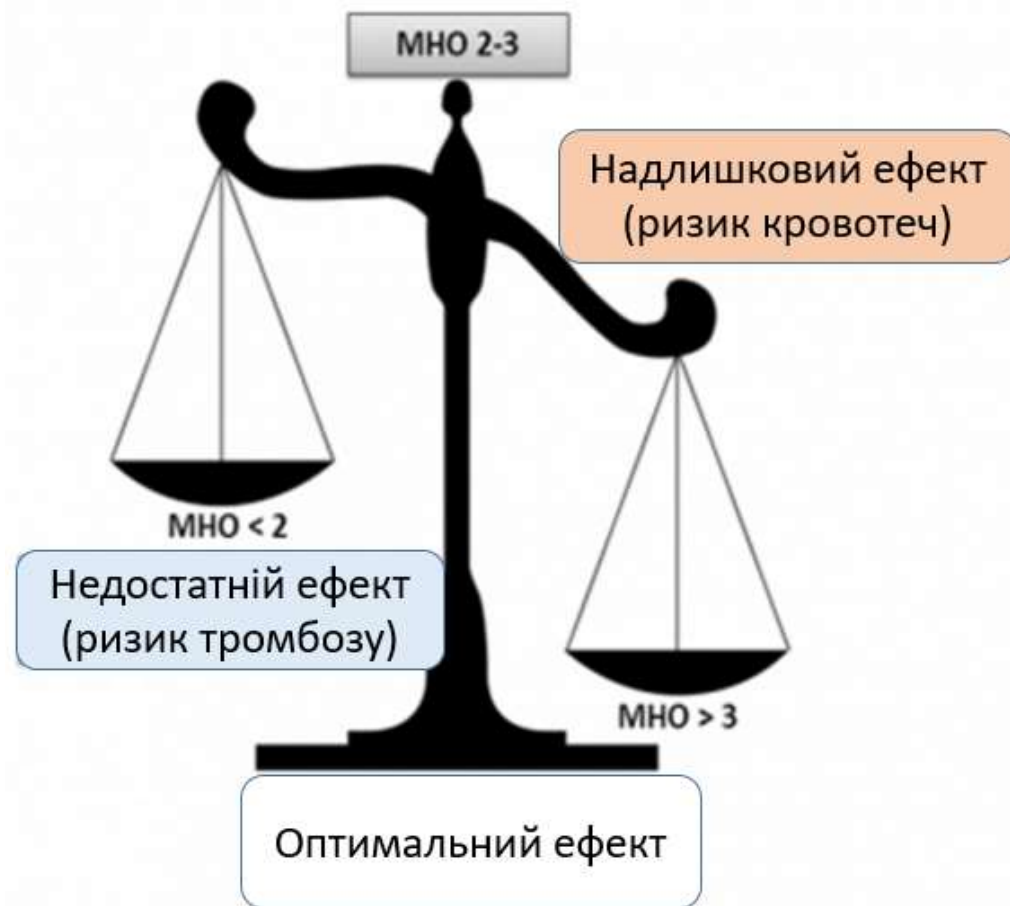
MNV (Міжнародне нормалізоване відношення, INR)

Протромбінове відношення (ПВ) =
ПЧ пацієнта / середнє нормальне ПВ

$$\text{MNV} = \text{ПВ}^{\text{ISI(МІЧ)}}$$

*ISI або МІЧ – міжнародний індекс
чутливості тромбопластину
(зазначається в паспорті набору
реактивів)*

Контроль дії непрямих антикоагулянтів

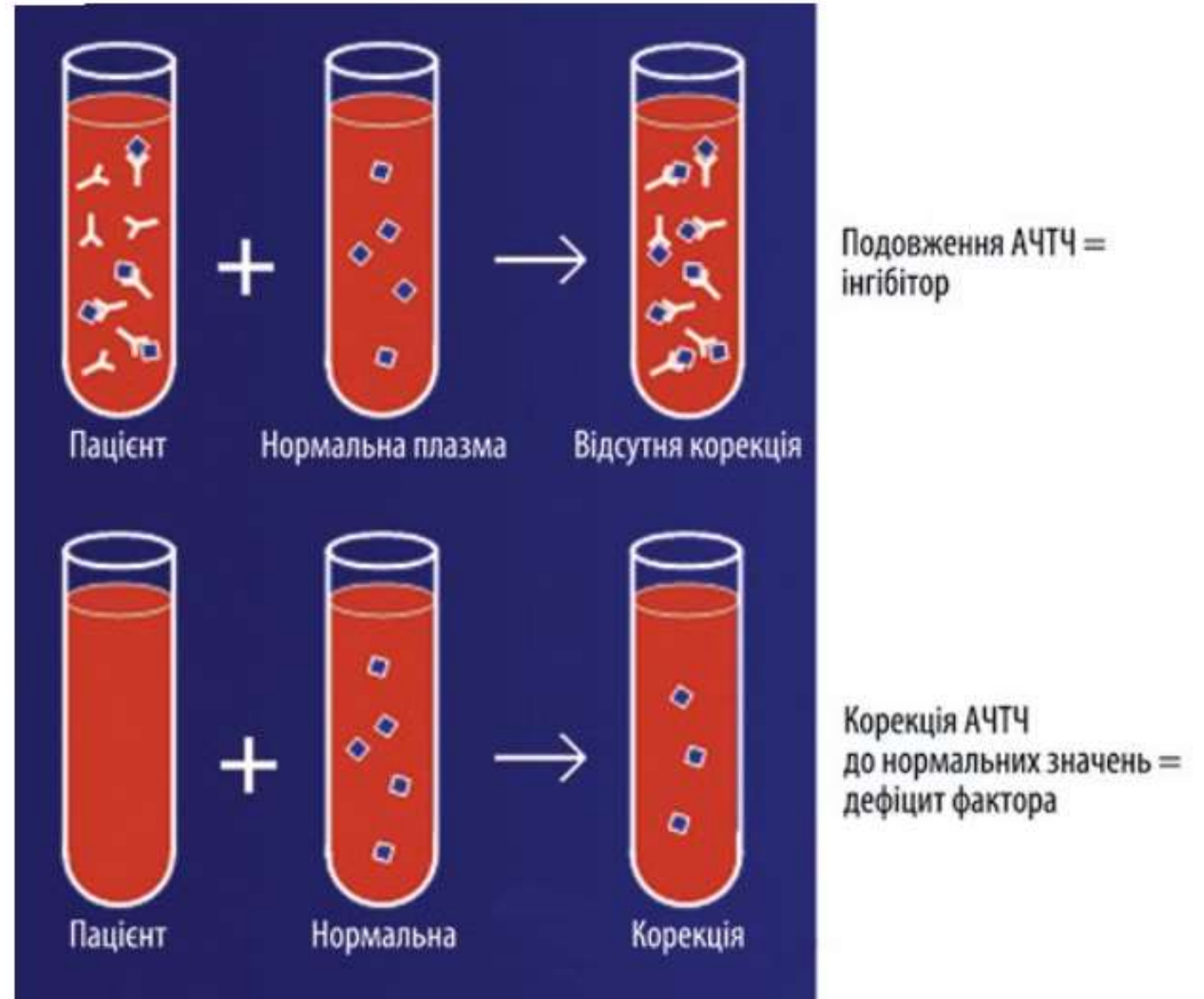


Інтерпретація результатів тестів АЧТЧ та ПЧ



Мікс-тест при подовженні АЧТЧ

- змішування плазми крові пацієнта з нормальною плазмою у співвідношенні 1:1 і подальшою повторною оцінкою АЧТЧ



Тести оцінки ризику тромбозу

Розчинні фібрин-мономерні комплекси (РФМК)	Тромбінемія, претромбоз
Екамуліновий час (ЕЧ)	Функціонально-неактивні форми протромбіну
D-димер	Інтенсивність утворення та лізису фібринових згортків. Маркер тромбозу.
Комплекси тромбін-антитромбін (ТАТ)	Маркер гострого тромбозу
Фрагменти протромбіну F1+2	Активність перетворення протромбіну в тромбін при участі протромбінази (Xa + Va+ Ca ²⁺)
Активність протеїну С, антитромбіну III, плазминогену, ТАП, ПАІ-1	Уточнення стану антикоагулянтної та фібринолітичної системи
Анцистроновий час (АЧ)	Характеристика кінцевого етапу зсідання крові під дією тромбіноподібного ферменту - анцистронону, який нечутливий до дії гепаринів. Скорочення АЧ є показником розвитку тромбофілії.

Екамулін – фермент-активатор протромбіну, виділений з отрути змії Ефи багатолускової. На відміну від тромбопластину, який активує лише функціонально активний протромбін, екамулін активує як протромбін, так і його функціонально неактивні форми.



Ефа багатолускова
(*Echis multisquamatus*)

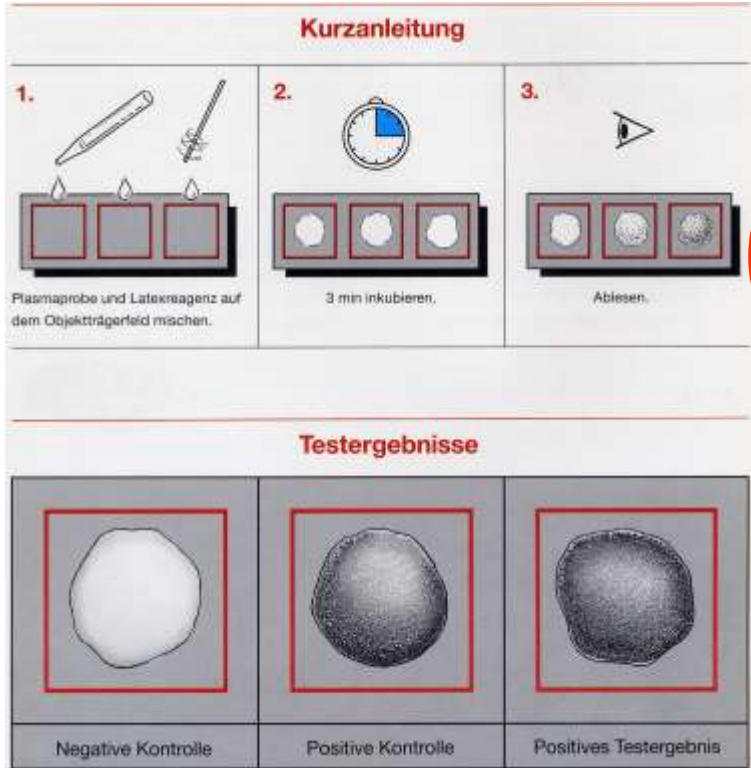
Анцистрон - тромбіноподібний фермент, виділений з отрути плазуна - Щитомордника звичайного - *Agkistrodon halys halys*. Анцистрон на відміну від тромбіну не інгібується антитромбіном



Щитомордник
(*Agkistrodon halys halys*)

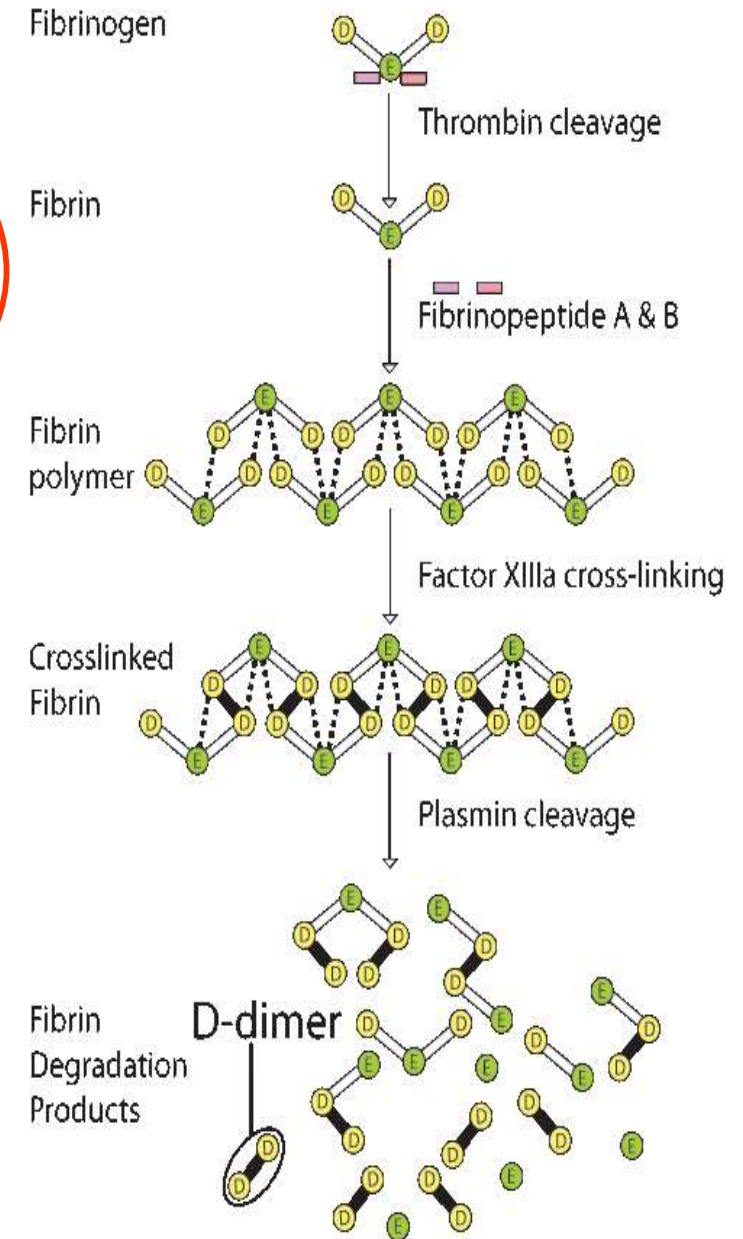


Маркер активації зсідання крові та фібринолізу



D-димер
норма в плазмі крові
< 500 нг/мл

Джерело:
розчинний поперечно-
зшитий фібрин + фібринові
відкладення в судинах
різного калібру



Діагностичне значення D-димеру

- **Головне діагностичне значення**
- Ключова цінність D-димеру полягає не в підтвердженні діагнозу, а в його **високій негативній прогностичній значимості**.
- **Виключення тромбозу:** Якщо рівень D-димеру **низький** (нижче порогового значення), з імовірністю понад 95% можна стверджувати, що у пацієнта **немає** гострого тромбозу або тромбоемболії.
- **Діагностика ДВЗ-синдрому:** D-димер є критичним маркером синдрому дисемінованого внутрішньосудинного зсідання, де спостерігається масивне утворення та розпад тромбів.

Стан	Значення тесту
ТЕЛА	Для виключення діагнозу при низькій або середній клінічній імовірності.
Тромбоз глибоких вен (ТГВ)	Для швидкого сортування пацієнтів з болем/набряком кінцівок.
COVID-19	Використовується як прогностичний маркер: різке зростання корелює з тяжким перебігом та ризиком тромбозів.
Моніторинг терапії	Оцінка ефективності антикоагулянтної терапії.

D-димер часто буває "хибно позитивним"

D-димер — це маркер запалення та активації зсідання крові, а не тільки тромбозу.

Він часто підвищується при станах, які не є тромбозом:

- Хірургічні втручання та травми.
- Вагітність (нормальне фізіологічне підвищення, що зростає з терміном).
- Інфекційні та запальні процеси.
- Онкологічні захворювання.
- Вік > 50 років: порогове значення розраховується за формулою:
D-димер = (вік x 10) мкг/л.

Література

- Біологічна і біоорганічна хімія: у 2 книгах. — Книга 2. Біологічна хімія: підручник (ВНЗ IV р. а.) / за ред. Ю.І.Губського, І.В. Ніженковської. - ВСВ «Медицина». - 2021.- 544 с.
- Клінічна біохімія. Текст і кольорові ілюстрації : пер. 7-го вид. / Мерфі М., Шривастава Р., Дінс К.; наук. ред. Лаповець Л.— К.: ВСВ «Медицина», 2024. – VIII, 183 с.
- Клінічна біохімія : підручник: у 3 т. / Г. Г. Луньова, Г. М. Ліпкан, Л. В. В'юницька та ін./; за ред. Г. Г. Луньової. – Львів : ПП «Магнолія 2006», 2021. Т. 1. – 316 с.
- Клінічна біохімія : підручник: у 3 т. / Г. Г. Луньова, Г. М. Ліпкан, Л. В. В'юницька та ін. /; за ред. Г. Г. Луньової. – Львів : ПП «Магнолія 2006», 2023. Т. 2. – 372 с.
- Клінічна біохімія (підручник) / За ред. проф. Склярова О.Я. – К.: Медицина, 2006. – 432 с.
- Yin, Y. L., Ye, C., Zhou, F., Wang, J., Yang, D., Yin, W., Wang, M. W., Xu, H. E., & Jiang, Y. (2021). Molecular basis for kinin selectivity and activation of the human bradykinin receptors. Nature structural & molecular biology, 28(9), 755–761. <https://doi.org/10.1038/s41594-021-00645-y>
- Catella-Lawson, F., Reilly, M. P., Kapoor, S. C., Cucchiara, A. J., DeMarco, S., Tournier, B., Vyas, S. N., & FitzGerald, G. A. (2001). Cyclooxygenase inhibitors and the antiplatelet effects of aspirin. The New England journal of medicine, 345(25), 1809–1817. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa003199>