

# Teorie srážení krve

MUDr. Svatopluk Valníček

# Původní teorie Morawitzova

Tkáňová trombokináza

$\text{Ca}^{2+}$

Protrombin  $\longrightarrow$  Trombin

Fibrinogen  $\xrightarrow{\downarrow}$  Fibrin

# Obsah

## I. FYSIOLOGIE hemostázy

1. zástava krvácení

a) primární hemostáza

b) srážení krve, hemokoagulační kaskáda

c) stabilizace koagula

2. zábrana nadměrného srážení - přirozené inhibitory krevního srážení

3. rozpouštění koagula (fibrinolýza) a rekanalisace cévy

## II. TROMBOHEMORAGICKÁ (HEMOSTATICKÁ) ROVNOVÁHA

## III. Stručná PATOLOGIE hemostázy:

A) krvácivé poruchy a základy možností jejich ovlivnění

B) zvýšený sklon k nadměrnému srážení (trombofilie), trombotické stavy a základy možnosti jejich ovlivnění

# HEMOSTÁZA

## Ad I. 1. zástava krvácení

- a) primární hemostáza
- b) srážení krve, hemokoagulační kaskáda
- c) stabilizace koagula

## Ad I.1.a) PRIMÁRNÍ HEMOSTÁZA

Cévní stěna  
trombocyty

# PRIMÁRNÍ HEMOSTÁZA

## Poranění

hladké svalstvo cévní stěny  
nesmáčivý povrch cévního  
endothelu

reflexní vasokonstrikce  
odhalení smáčivého  
subendothelu=kolagenu

vWF a/nebo adhesivní  
glykoprotein fibronectin

Vazba na receptor pro vWF

Membránové GP, hlavně I b / IX -V destiček

Adheze trombocytů

ADP z poraněných tkání → agregace Thc → uvolňovací reakce

serotonin - vasokonstrikce  
ADP - další agregace Thc  
Tromboxan A<sub>2</sub> - další agregace  
Thc

**Primární hemostatická zátka**



# Faktor von Willebrand

( adhezivní protein)

- synteza v megakaryocytech KD a endothelu
- uložen v subendothelu, THC
- vyplavuje se za za pathol.okolností ve větším množství (marker poškození cév)
- v plasmě je nosičem F.VIII (chrání ho)
- umožňuje vazbu Thc na kolagen cévního subendothelu prostřednictvím GP Ib/IX destičkové membrány-adheze (a jiných GP) ,následně GP IIb/IIIa (závislost na krev.skupině=nejnižší 0 nejvyšší AB)

nedostatek FvW - porucha primární hemostázy

vrozený defekt - choroba von Willebrandova

ostatní adhezivní proteiny-fibronectin(FN-adheze THC) a

vitronectin(VN-regulační fce v  
syst.komplementu, koagulace a fibrinolýzy)

# **Ad I.1.b) SRÁŽENÍ KRVE V KREVNÍ PLASMĚ**



# Nomenklatura koagulačních faktorů

I - fibrinogen

II - protrombin

IIa - trombin

V – proakcelerin(kofaktor)

Va - aktivovaný F.V (akcelerin)

VII - prokonvertin

VIIa - aktivovaný F.VII  
(konvertin)

VIII-antihemofil.globulin(kof.)

VIIIa – aktivovaný F.VIII

IX - Christmas faktor

IXa - aktivovaný F.IX

X - Stuart- Prowerové

Xa - aktivovaný F.X

XI – PTA

XIa – aktivovaný F.XI

XII - Hagemanův f.

XIIa - aktivovaný F.XII

XIII - FSF ( fibrinstabilizační f.),  
(Laki-Lorand)

XIIIa-transglutaminasa

PF3 - destičkový tromboplastický  
faktor

Ca<sup>2+</sup> - ionizovaný vápník

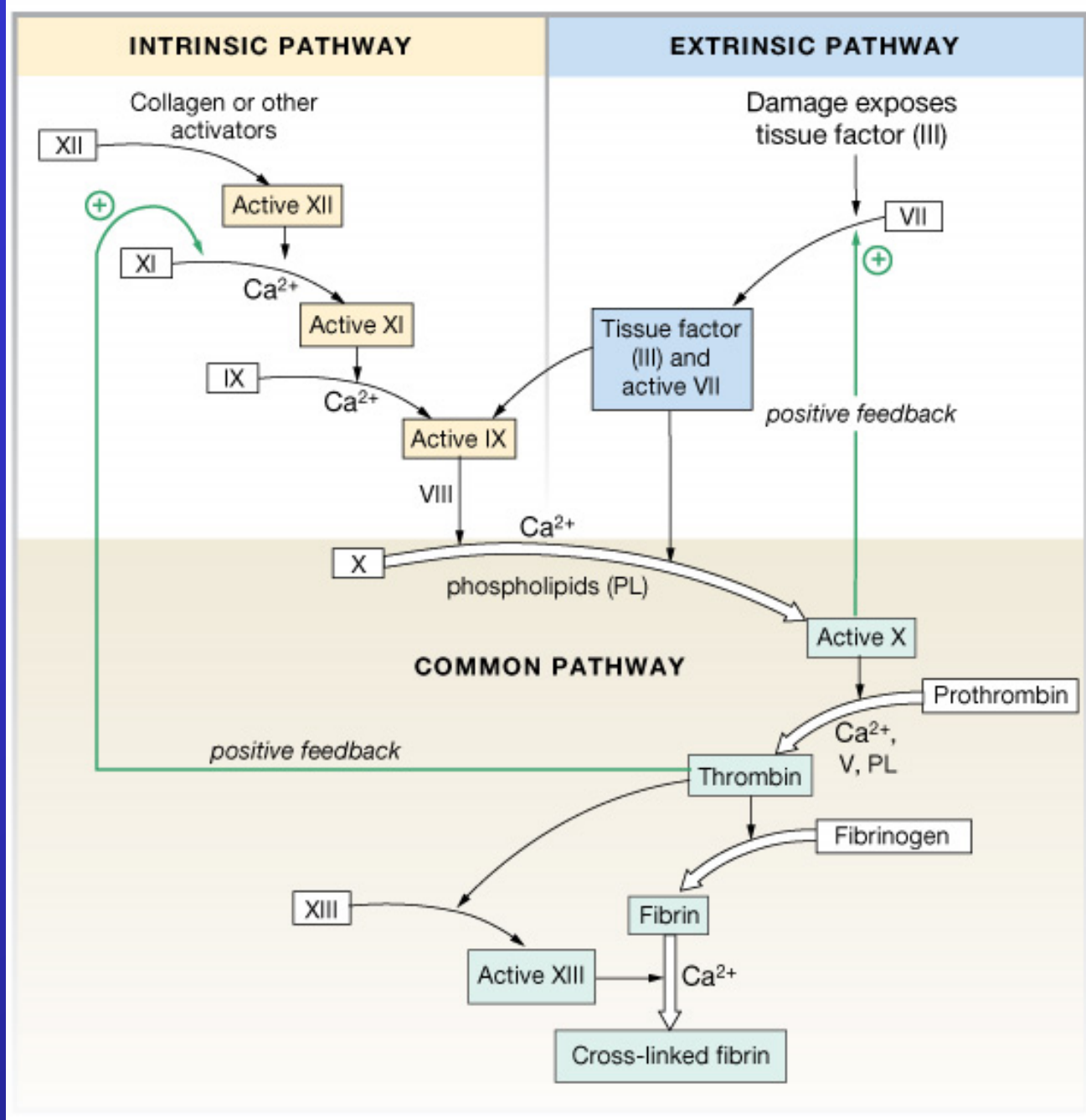
# Původní teorie Morawitzova

Tkáňová trombokináza

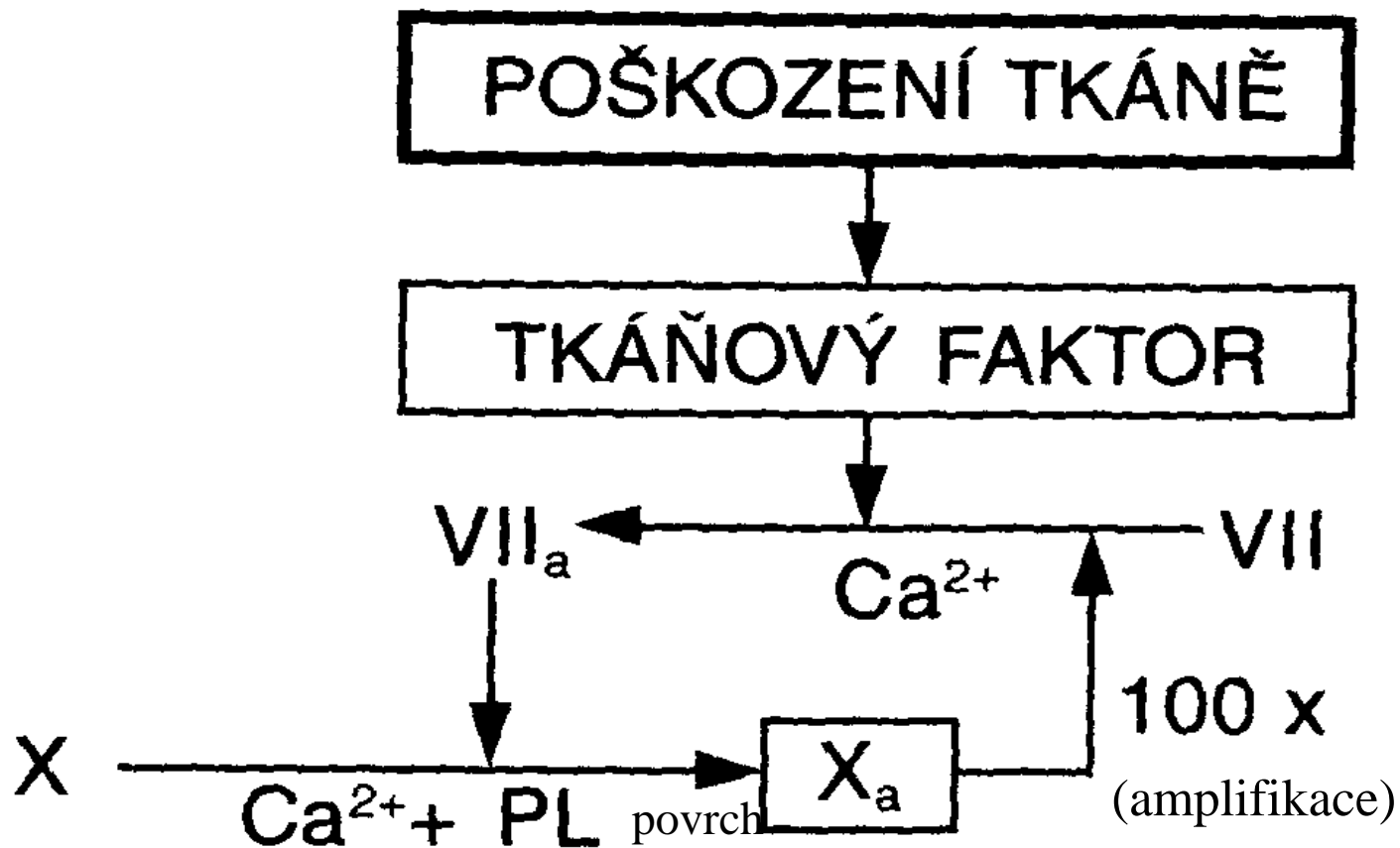
$\text{Ca}^{2+}$

Protrombin  $\longrightarrow$  Trombin

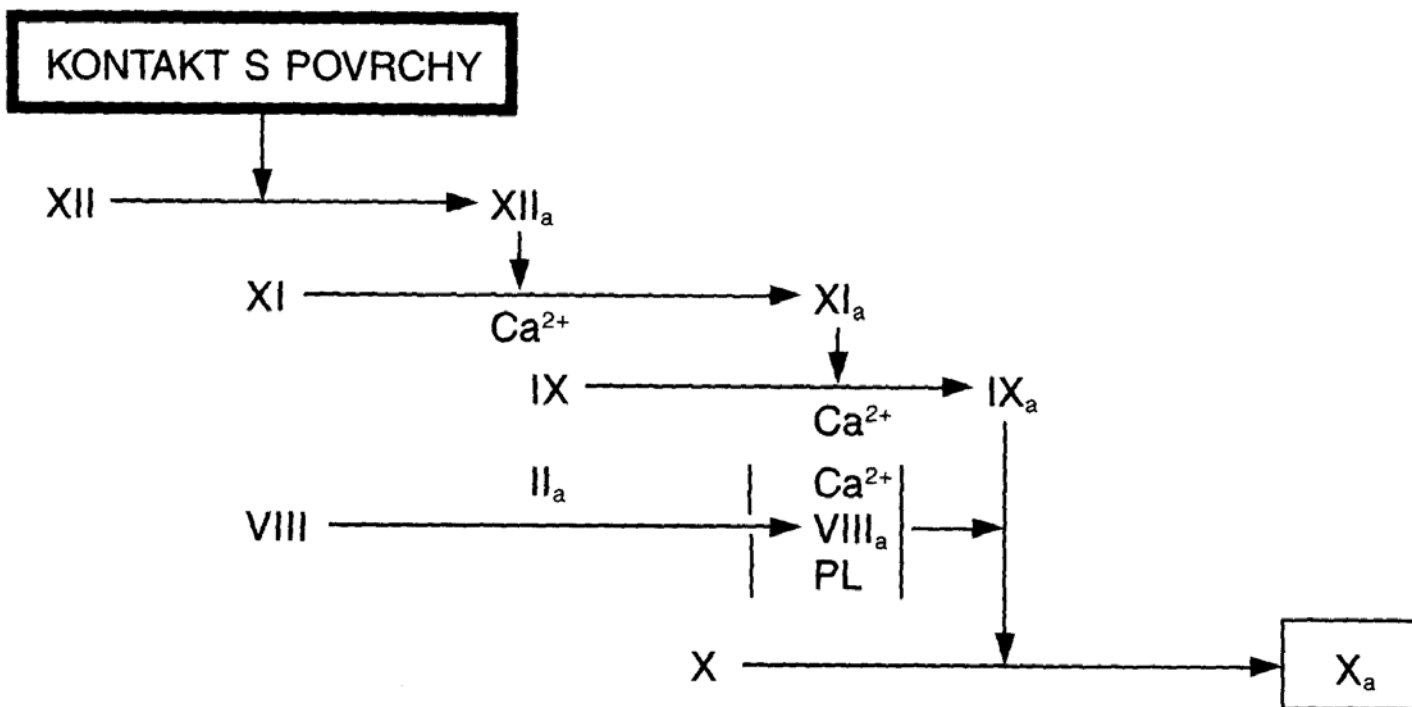
Fibrinogen  $\xrightarrow{\downarrow}$  Fibrin



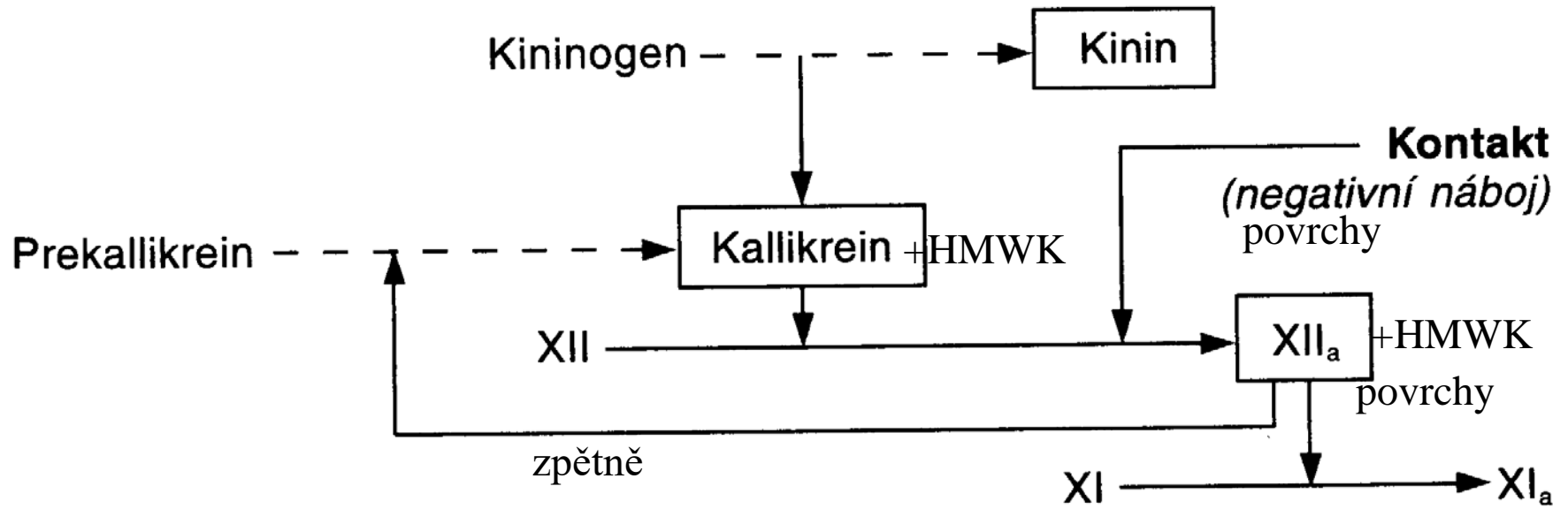
# SCHÉMA VNĚJŠÍ CESTY KOAGULACE



## SCHÉMA VNITŘNÍ KOAGULAČNÍ CESTY



## SCHÉMA AKTIVACE FAKTORU XI



## F.XII-XIIa-XI-XIa

- poškození povrchu cévy--- kontakt F.XII se subendothelem---aktivace kontaktem--- XIIa---ten mění prekalikrein na kalikrein, který společně s HMWK (kininogenem) dokončí aktivaci F.XII hydrolysou na dva fragmenty XII a, f. ( kalikrein zvyšuje i uvolňování kininů z HMWK ).
- ( Kininy zvýší kontraktilitu hladkých svalů, sníží propustnost cév a vyvolají bolest )
- Aktivní XIIa mění pak XI na XIa (nadměrou aktivaci brzdí C1INH.)





## F.XII-XIIa-XI-XIa

- poškození povrchu cévy--- kontakt F.XII se subendothelem---aktivace kontaktem--- XIIa---ten mění prekalikrein na kalikrein, který společně s HMWK (kininogenem) dokončí aktivaci F.XII hydrolysou na dva fragmenty XII a, f. ( kalikrein zvyšuje i uvolňování kininů z HMWK ).
- ( Kininy zvýší kontraktilitu hladkých svalů, sníží propustnost cév a vyvolají bolest )
- Aktivní XIIa mění pak XI na XIa (nadměrou aktivaci brzdí C1INH.)

## Prekalikrein ( Fletcher faktor)

-neaktivní forma proteinasy ze slivivky

## Kalikrein

- aktivní forma

- vytváří spol. s jinými kininogenasami kininy z HMWK

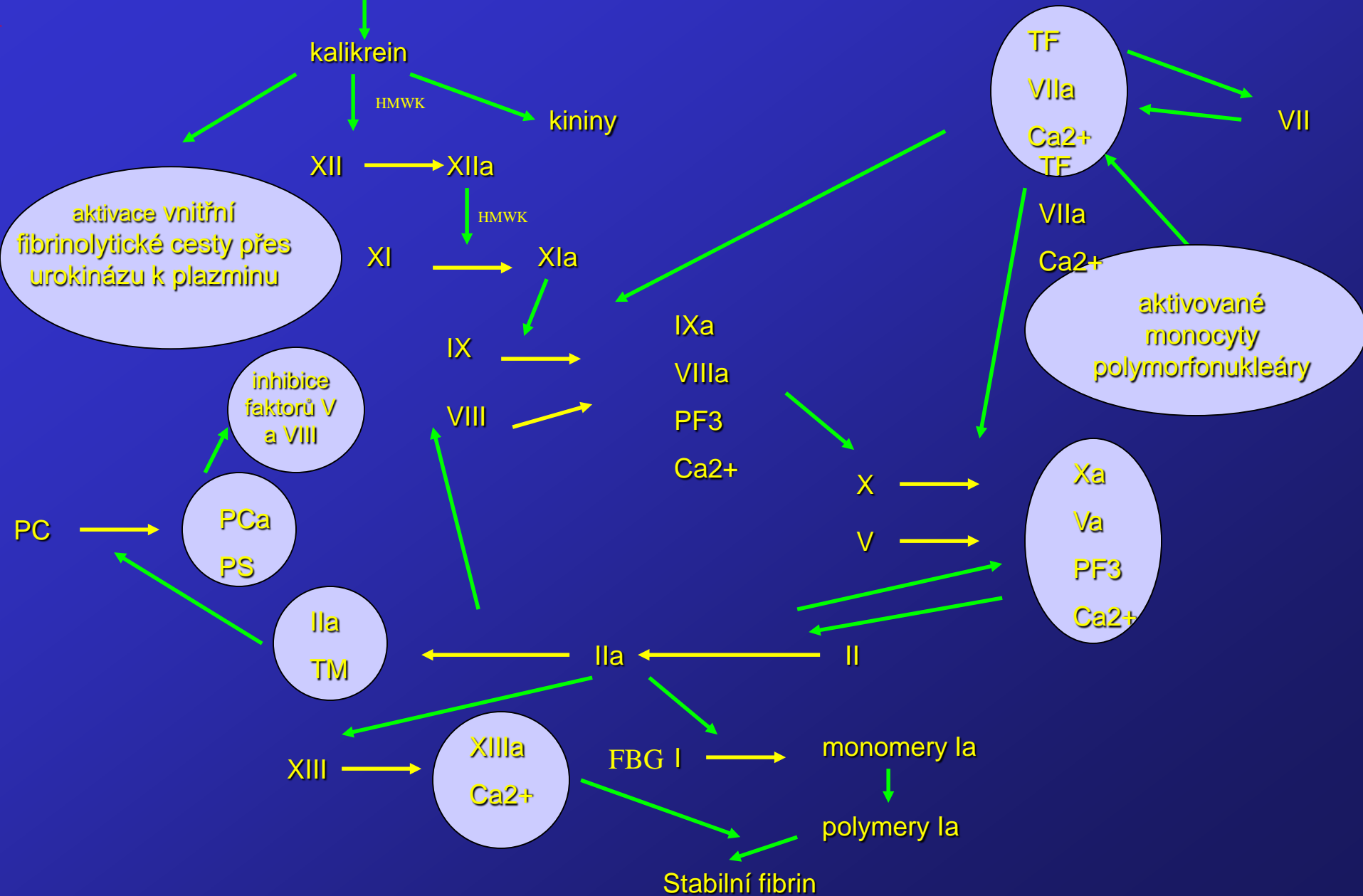
**HMWK** – proteiny syntetisované v játrech

Kininy = vasoaktivní peptidy - zejména bradykinin a lysylbradykinin (kontrakce hladkých svalů, sníž.propust.cév, bolest)  
( zpětnou vazbou HMWK s XI a kalikreinem stykem s odhaleným subendothel – vytvoří opt. povrch pro XII)  
- všechny tyto látky po své aktivaci zesilují aktivaci předchozí (XII-povrch-XIIa-prekalikrein-kalikrein-hydrolysa XII na XIIa)

# Hemokoagulační kaskáda

## Vnitřní systém

## Zevní systém



# Stabilizace koagula

## Fibrinstabilizační faktor (FSF)

Zajišťuje polymerizaci fibrinu

1. Fibrinové monomery
2. Intermediární polymer
3. Síťování = zpevnění fibrinového koagula

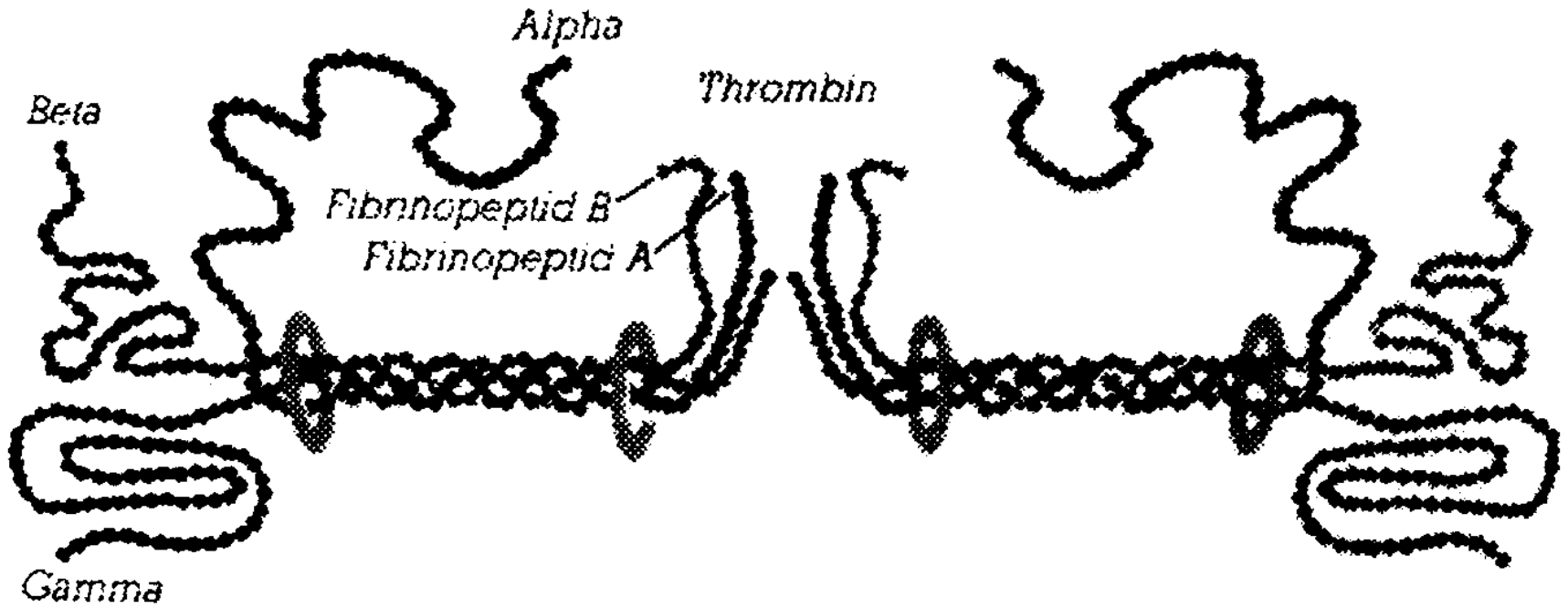
Výsledkem: STABILNÍ FIBRINOVÁ ZÁTKA

# Vlastnosti jednotlivých faktorů srážení

## Faktor I – fibrinogen

- trombinem koagulabilní protein(preformován v plasmě)
- syntéza FBG v játrech, ale ne v hepatocytech
- substrát pro trombin
- protein akutní fáze
  
- 3 páry neidentických polypeptidových řetězců (alfa, beta, gama) spojených disulfidovými můstky
- řetězce kódovány geny na 4 chromosomu

# Fibrinogen



## **Factor II - protrombin (součást kr.plasmy)**

- glykoprotein - syntetizován v hepatocytech
- glutaminové zbytky - koagulačně neúčinné  
K vitamin provádí jejich karboxilaci na  
gamakarboxiglutamové – koagulační účinnost

## **Faktor IIa-trombin**

- serinová proteasa
- odštěpuje od FBG fibrinopeptidy A a B  
= vznik monomerů fibrinu

## **Faktor V – proakcelerin (kofaktor)**

- protein syntetizován v játrech, ale ne v hepatocytech
- časově nestabilní, termolabilní
- nezávislý na K vit., citlivý na trombin (aktivován jeho prvními stopami)

**Faktor Va** - aktivovaný F.V (akcelerin, aktivní kofaktor)  
spoluúčast na konverzi II na IIa

## **Faktor VII - prokonvertin**

- glykoprotein syntetizován v hepatocytech
- K vit. dependentní, stejně, jako F. II (karboxilace)

**Faktor VIIa** - aktivovaný F.VII (konvertin) (aktivuje ho TF)

- serinová proteasa, aktivuje X na Xa



## **Faktor VIII (kofaktor)**

- antihemofilický globulin
- glykoprotein s největší m.h. ze všech koagulačních proteinů (HC a LC)
- časově nestabilní, termolabilní
- v plasmě vázán na F. v. Willebrand
- neaktivní, aktivace fosfolipidy a prvními stopami trombinu ze zevního systému

## **Faktor VIIIa**

- aktivovaný F. VIII
- kofaktor vnitř. systému srážení
- ( kofaktor aktivace Faktoru X)

## **Faktor IX - Christmas faktor**

- antihemofilický F. B
- glykoprotein syntetizovaný hepatocyty
- K vitamin dependentní jako F. II, VII a X

## **Faktor IX a - aktivovaný F. IX**

- aktivován rozštěpením na 2 podjednotky, vázané disulfidovými můstky
- serinová proteasa

**Faktor X – Stuart - Prowerové ( jméno pacienta a pacientky)**

- glykoprotein syntetizovaný hepatocyty
- K vit. dependentní
- klíčový faktor krevního srážení

**Faktor X a - aktivovaný F.X**

- po aktivaci proteolytickým štěpením
- serinová proteasa

**Faktor XI - PTA**

- glykoprotein
- aktivován v kontaktní fázi

**Faktor XI a**

- serinová proteasa
- aktivuje F. IX na IX a.

## Prekalikrein

-neaktivní forma proteinasy ze slivivky

## Kalikrein

- aktivní forma

- vytváří spol. s jinými kininogenasami kininy z HMWK

HMWK – proteiny syntetisované v játrech

Kininy - zejména bradykinin a lysylbradykinin

(s F. XI, HMWK a kalikreinem v kontaktu s odhaleným subendothelem – vytvoří opt. povrch pro XII)

- všechny tyto látky po své aktivaci zesilují aktivaci

předchozí (XII-povrch- částečně aktivovaný XIIa

(=XII') + prekalikrein-kalikrein-finální hydrolysa XII' na

XIIa)

## PF 3 - destičkový tromboplastický faktor

- fosfolipidy z membrány Thc
- fosfatidylserin a fosfatidyletanolamin

**Ca<sup>2+</sup> - ionizovaný vápník**

# Enzymatické vlastnosti faktorů srážení

**Faktory II, VII, IX, X, XI, XII**

- proenzymy z nichž aktivací limitovaným štěpením vznikají aktivní enzymy s enzymatickou aktivitou=

**=Faktory IIa, VIIa, IXa, Xa, XIa, XIIa**

- serinové proteázy

-postupnou kaskádovitou aktivací, vždy předcházející enzym

aktivuje následující proenzym v kaskádě

- současně postupné zesilování účinku (viz další obr.)

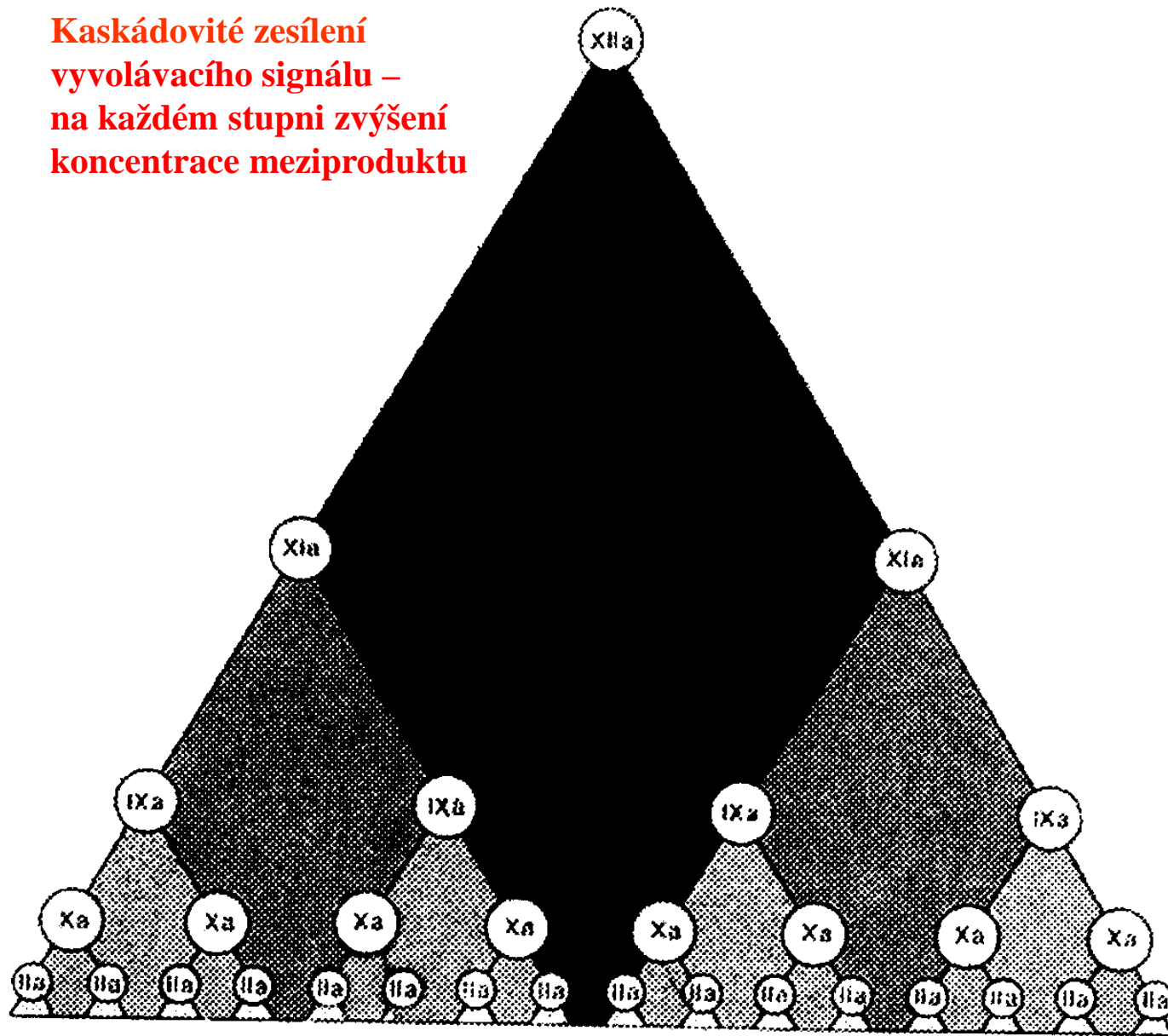
**Ostatní faktory V, VIII, HMWK**

-kofaktory

**Fibrinogen**

- substrát

**Kaskádovité zesílení  
vyvolávacího signálu –  
na každém stupni zvýšení  
koncentrace meziproduktu**

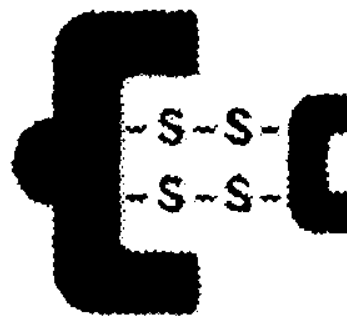


fibrinogen  $\longrightarrow$  fibrin



Inaktivní faktor

Proteolýza



Aktivní faktor



Peptidy



# Aktivační proces=částečná proteolýza-vznik serinové proteázy

- proteolýza
- / /
- H<sub>2</sub>N-Gla-oblast-peptid-aktiv.místo-COOH
- / /
- S\_\_\_\_\_S
- \_\_\_\_\_
- H<sub>2</sub>N-Gla-oblast aktivní místo-COOH
- / /
- S\_\_\_\_\_S
- 
- + aktivační peptid
- Proteolýza serinovými proteázami v místě argininové nebo lysinové vazby
- Rozštěpení molekuly za vzniku dvouřetězcové bílkoviny,spojené disulf.vazbami

# Trombohemoragická rovnováha

V živém organismu můžeme předpokládat, že téměř neustále probíhá sled **prohemostatických** a **antihemostatických** dějů, **koagulace**, regulovaná přirozenými **inhibitory** a **fibrinolytickými mechanismy**.

Za běžných, tj. fyziologických poměrů je tento stav vyrovnaný, takže nedochází ani ke krvácení, ani k hyperkoagulaci.

Za patologických okolností, dojde-li např. k poranění, spouští se **prokoagulační** děje, které jsou ale regulovány **inhibitory**, aby nedošlo k přestřelení, hojí-li se poranění, musí se **fibrin odstranit**, aby mohlo dojít k normální krevní cirkulaci.

**Chybí-li** nějaký **prokoagulační** činitel, nebo je-li spotřebován a spotřeba převládá nad produkcí, dochází ke **krvácivým poruchám**, **chybí-li** regulační mechanismy **inhibitorů**, neb **fibrinolysy**, může dojít k **trombotizaci**, nebo k **hyperkoagulaci**.

# I. 2) PŘIROZENÉ INHIBITORY KREVNÍHO SRÁŽENÍ

(slouží k inaktivaci ff. a tím udržení rovnovážného stavu)

1)Antitrombin III ( AT III )	serpin
2)Heparin kofaktor II (HC II)	serpin
3)C1-inhibitor	serpin
4)Alfa <sub>1</sub> antitrypsin(alfa <sub>1</sub> AT)	serpin
5Inhibitor cesty tkáňového faktoru – TFPI (tissue factor pathway inhibitor)	kunin
6)Protein C ( PC ) aktivace trombinem (role trombomodulinu-TM)	serinová proteáza
6a)Aktivovaný protein C ( APC )	
7)Protein S (PS vázaný a volný )	kofaktor
8)Trombomodulin(TM)	kofaktor
9)Inhibitor aktivovaného PC(PCI)	serpin

# Antitrombin III ( AT III )

- alfa-glykoprotein, tvořený v játrech, endothel
- nejdůležitější přirozený inhibitor serinových proteáz ( serpinů)
- centrální úloha v hemostatické rovnováze
- váže se s trombinem na ireversibilní komplex TAT
- účinnost a) samostatně pomalá ( 15-30min.)  
b) společně s heparinem (nebo s proteoglykany endothelií) – rychlá

## DALŠÍ PŘIROZENÉ INHIBITORY SRÁŽENÍ

Heparin kofaktor II (HC II) **Specifický inhibitor trombinu** - přítomen na endothelu cév

C1 inhibitor (C 1 INH) **hlavní inhibitor faktorů kontaktu (XIIa, Kalikrein), působí i v komplement.systému, ev. také na plasmin vzniká v játrech**

---

**Proteinázový inhibitor závislý na proteinu Z(ZPI) působí proti Xa ( Xia), vznik v játrech (PZ je jeho kofaktorem)**

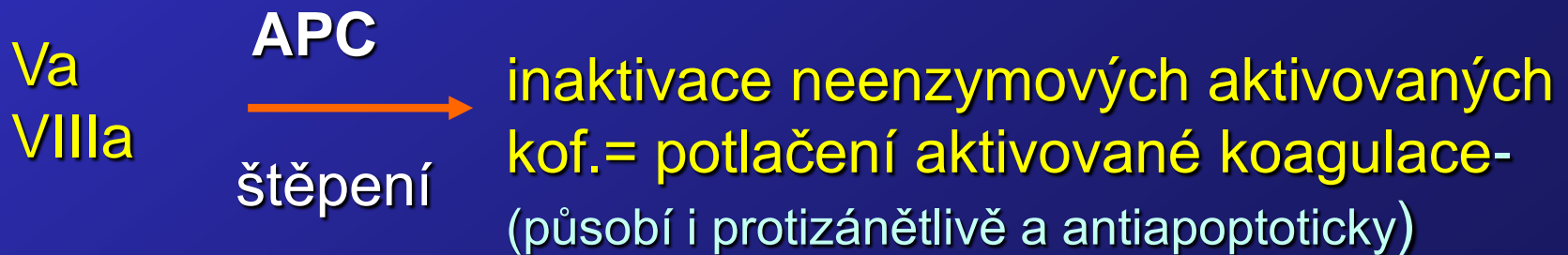
**System proteinu C ( APC – TM - PS) - štěpí Va a VIIa - tím reguluje tvorbu sraženiny**

## **Protein C ( PC )**

- glykoprotein, syntetizován v játrech
- závislost na K vitaminu
- klíčový přirozený inhibitor srážení

Jeho aktivace: na cévních endotheliích je – **trombomodulin** (receptor pro **trombin**-tím působí jako kofaktor)

- navázání trombinu = aktivace PC **trombinem**
- aktivovaný protein C (APC) **získává vlastnosti** serinové proteasy (aktivace zesilována endotheliál.receptorem pro PC(EPCR))



# Trombomodulin (TM)

není sice inhibitor, ale

-protein, vzniká v endothelu, součást membrány endotelové buňky

-(částečné uvolňování do plasmy, více při poškození endothelu)

-váže trombin, a tím umožňuje aktivaci PC na APC

# Protein S

**glykoprotein, syntetizovaný v játrech,  
závislý na vitaminu K**

**1) výskyt na fosfolipidovém povrchu Thc a endothelií -  
váže PC k jejich povrchu = netrombogennost endotheliálních  
povrchů**

**2) výskyt v plasmě a) volný = kofaktor PC  
b) vázaný = komplex s C4 binding proteinem  
(což je složka komplementu)**

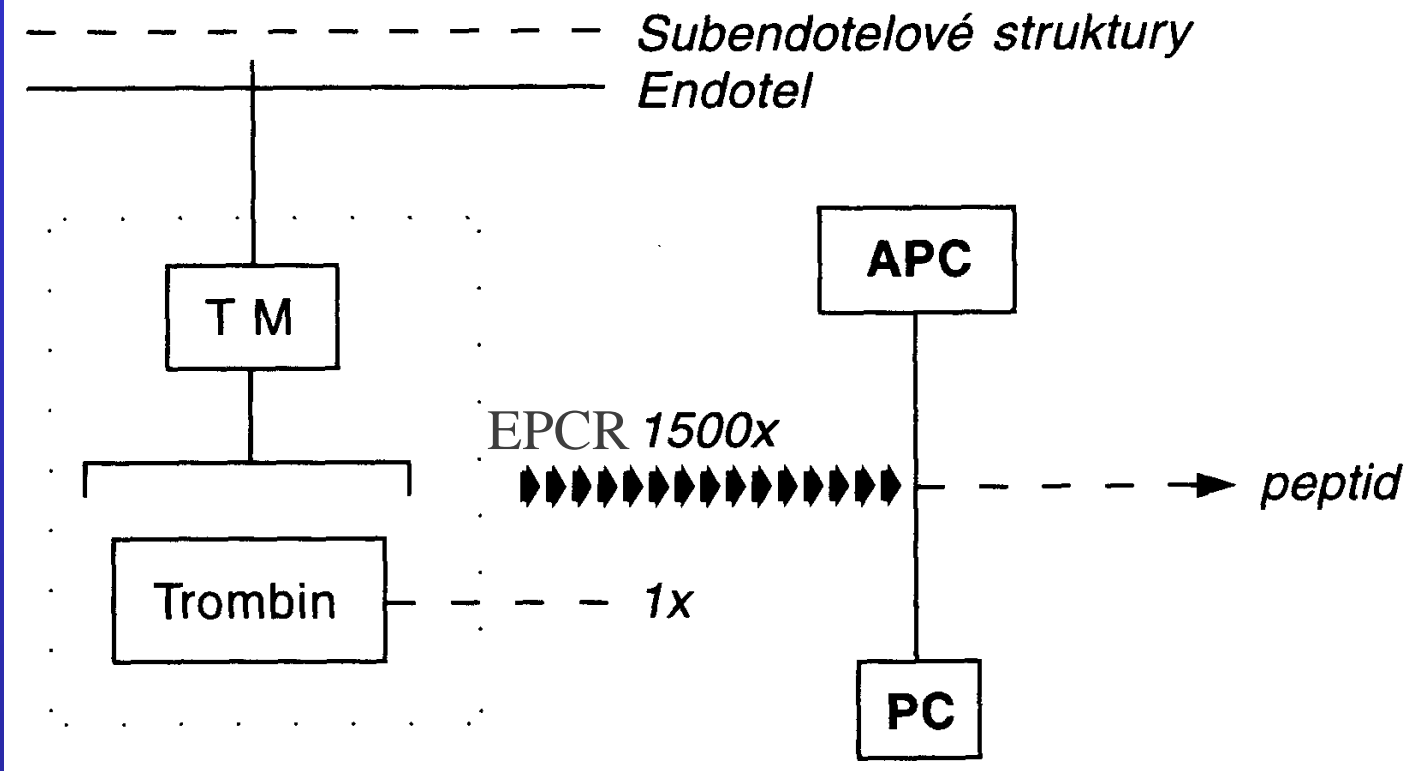


## **ROZDÍL v působení ATIII a APC:**

**AT III působí vytvářením nerozpustného komplexu TAT,**

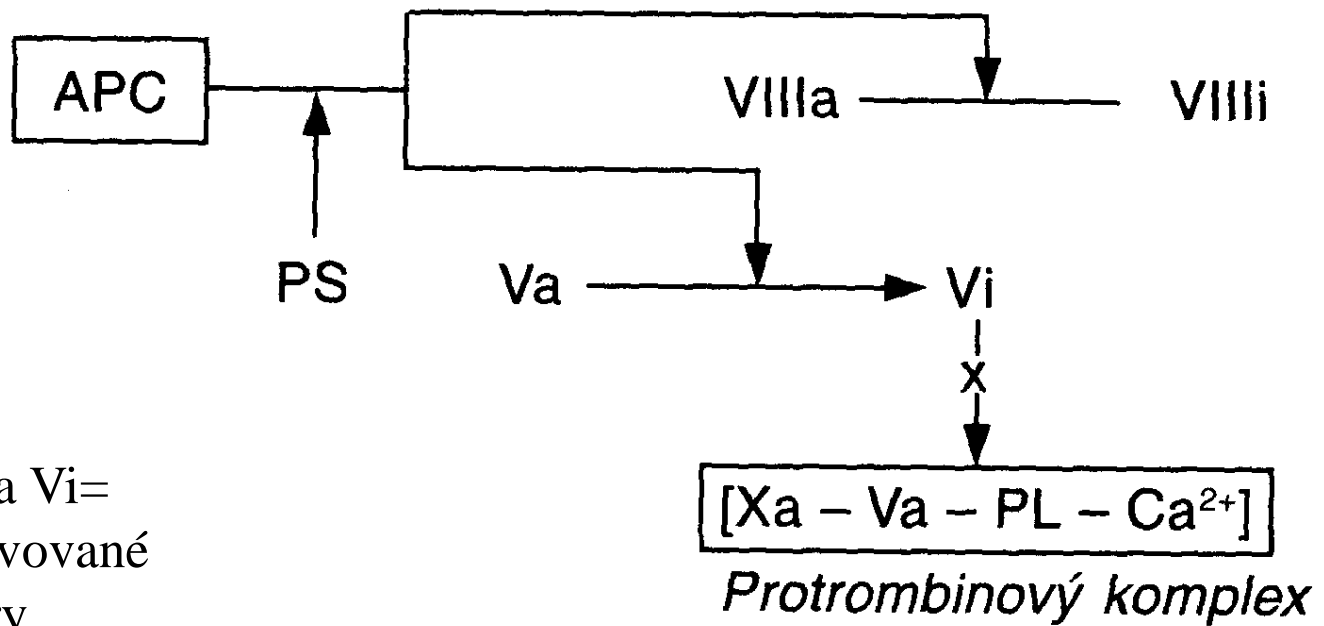
**APC působí štěpením VIIIa a Va  
( také aktivuje fibrinolýzu)**

## SCHÉMA AKTIVACE PROTEINU C



TM=trombomodulin

## SCHÉMA PŮSOBENÍ AKTIVOVANÉHO PROTEINU C NA FAKTORY V A VIII

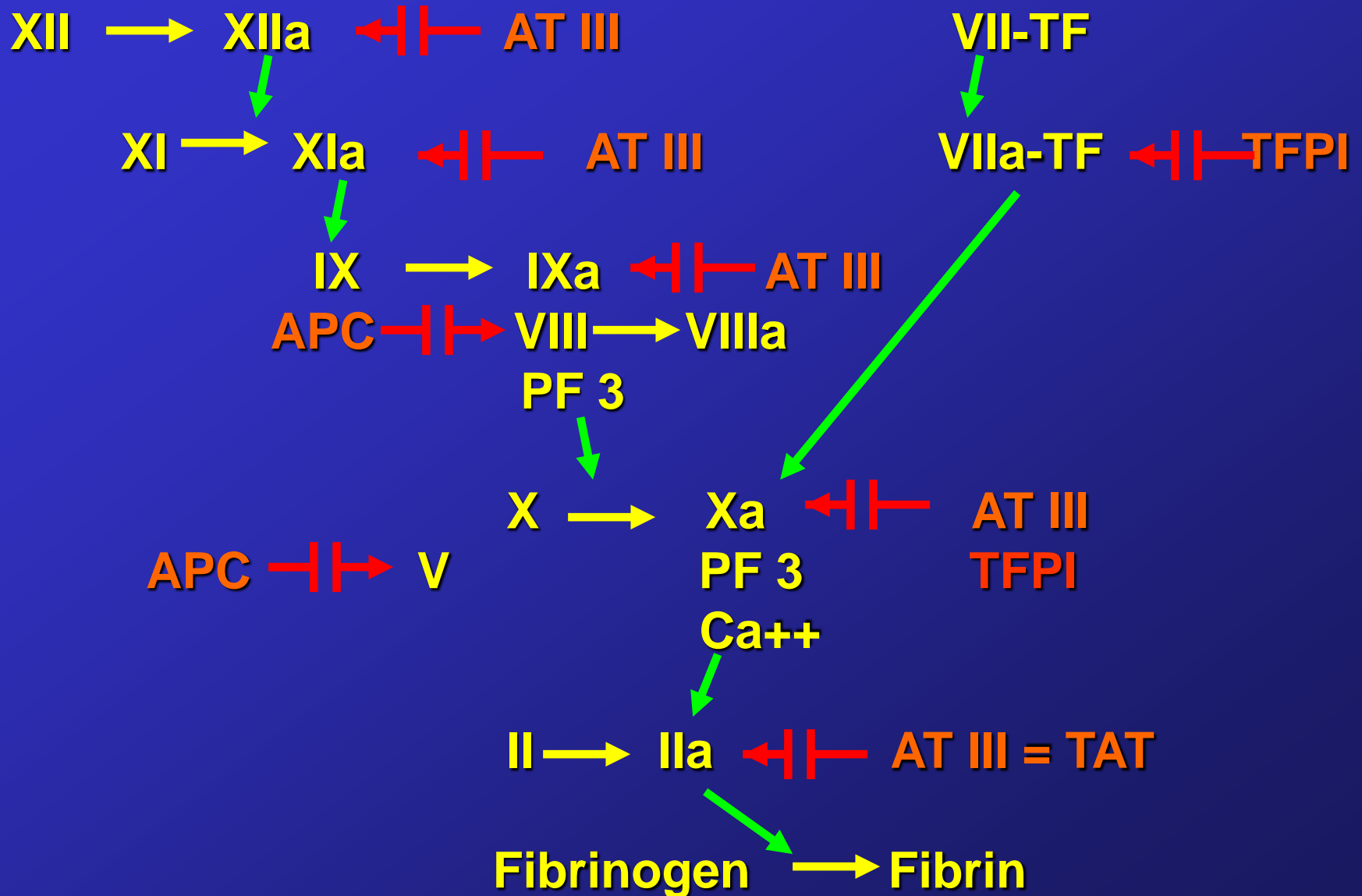


VIIIi a Vi=  
inaktivované  
faktory

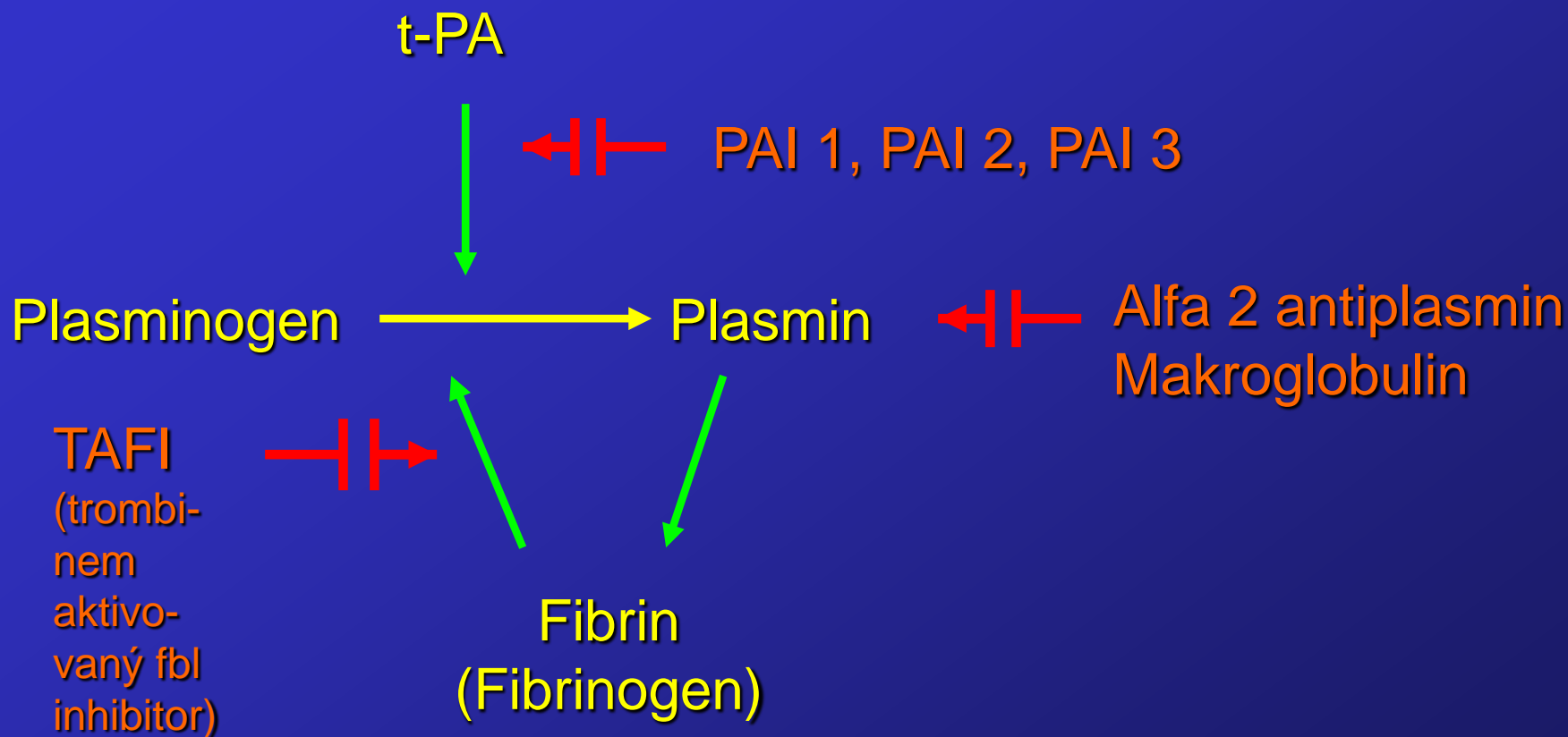
## TFPI (Tissue Factor Pathway Inhibitor)

- syntéza v endotheliích
- inhibitor tkáňového faktoru
- specifický inhibitor aktivace zevního koagulačního systému TF( tkáň.faktoru) a F.VII
- inhibuje koagulaci tvorbou neaktivního komplexu TFPI +Xa+VIIa+TF+ Xa přímo
- (chrání např.organismus před DIC u viremie)

# Lokalizace funkcí inhibitorů



# FIBRINOLÝZA



Také vnitřní fibrinolytická cesta aktivace FBL přes F.XIIa

# Faktory fibrinolýzy

## Plasminogen (PLG)

- glykoprotein syntetizován v játrech
- Dva řetězce - A, lehčí B

## Plasmin

- vznik: proteolytický enzym z PLG
- štěpí fibrin, vznik štěpů X, Y, pak D, E

## T-PA (tkáňový plasminogen-aktivátor)

- serinová proteaza z endothelu
- uvolňován trombinem a APC
- nejdůležitější aktivátor fibrinolýsy,
- katalyzován již vytvořeným trombinem

# Faktory fibrinolyzy

## + Streptokináza (SK)

- proaktivátor fibrinolýzy z beta-hem. streptokoků

## Urokináza (UK)

- serinová proteaza
  - syntetizovaná v ledvinách
- 

## Inhibitory fibrinolyzy

inhibitory plasminogen-aktivátoru PAI 1 ,PAI 2,  
(PAI-3)

## Trombinem aktivovatelný fibrinolysis inhibitor (TAFI)

- aktivován komplexem IIa-<sup>TM</sup>
- ruší katalytickou funkci fibrinu

Alfa-2 antiplasmin (alfa-<sub>2</sub>-AP) - inhibuje plasmin

Alfa 2 makroglobulin (alfa-2-MG)



# Streptokinasa (STREPTASE)

- Váže plasminogen, který konvertuje na plasmin
- Používala se k rozpouštění sraženiny po infarktu myokardu, hluboké žilní trombóze, masivní plicní embólii
- Významné vedlejší účinky – krvácení, alergie, pokles tlaku, horečka

## Tissue plasminogen activator (t-PA) – (alteplase)

- Aktivuje jen plasminogen který je vázaný na fibrin, proto je menší systémová plasminemie (menší riziko krvácení) **nyní hlavní v terapii**
- Vyšší náklady léčby

# Trombohemoragická rovnováha

V živém organismu můžeme předpokládat, že téměř neustále probíhá sled **prohemostatických** a **antihemostatických** dějů, **koagulace**, regulovaná přirozenými inhibitory a **fibrinolytickými mechanismy**.

Za běžných, tj. fyziologických poměrů je tento stav vyrovnaný, takže nedochází ani ke krvácení, ani k hyperkoagulaci.

Za patologických okolností, dojde-li např. k poranění, spouští se **prokoagulační** děje, které jsou ale regulovány inhibitory, aby nedošlo k přestřelení, hojí-li se poranění, musí se fibrin odstranit, aby mohlo dojít k normální krevní cirkulaci.

**Chybí-li** nějaký **prokoagulační** činitel, nebo je-li spotřebován a spotřeba převládá nad produkcí, dochází ke krvácivým poruchám, **chybí-li** regulační mechanismy inhibitorů, neb fibrinolysy, může dojít k **trombotizaci**, nebo k **hyperkoagulaci**.

# III. STRUČNÁ PATOLOGIE KREVNÍHO SRÁŽENÍ

## A) Krvácivé stavy

- hemofilie A
- hemofilie B
- defekty ostatních faktorů
- druhotné poruchy

## B) Trombofilní stavy

- vrozené mutace
- druhotné poruchy

# HEMOFILIE A

nejzávažnější a nejznámější

známa již v židovské populaci, uváděna v Bibli, starém zákoně,

v hanoverském panovnickém rodě, odtud ženami přenos do anglické královské rodiny a do ruské (carevič Alexej )

**Dědičnost** X chromosomální, mutace na jednom X chromosomu přenašečky:

v další generaci buď  $X^{\prime}X$  žena přenašečka

nebo  $X^{\prime}Y$  hoch hemofilik

nebo  $XX$  zdravá žena,  $XY$  zdravý muž

Ženská hemofilie jen v případě, že by otec hemofilik  $X^{\prime}Y$  a žena přenašečka  $X^{\prime}X$  měli spolu dceru  $X^{\prime}X^{\prime}$

Projevy: krvácení do kloubů, tkání, např. po extrakci zubu, při operacích, úrazech, lokální případy jen po operacích a úrazech

# Příčinné mutace hemofilie A v promoter regionu F.VIII genu(F8)

(Haemophilia A Mutation Database.

<http://europium.csc.mrc.ac.uk/WebPages/Main/main.htm;>)

- Bodové mutace-missense, nonsense, splicing
- Inserce
- Delece - malé, velké
- [ U některých není příčinná mutace v F8 genu (jiný gen, důležitý pro expresi FVIII, úzce propojený s genem FVIII). Časté mutace de novo.]



# HEMOFILIE B

**Defekt F.IX - stejná dědičnost, obdobné příznaky**

---

Léčení hemofilie A a B:

Koncentráty chybějícího faktoru VIII, nebo IX,

Dříve od dárců dnes již možnost rekombinantní

Lehké případy krvácení: inhibitory fibrinolýzy

# Ostatní faktory

## Defekt F. XI (PTA)

## Defekt F. XII – častěji projevy trombotické

přenos defektu autosomálně dominantní, u heterozygotů lehčí průběh

## Defekty faktorů

- V velmi vzácný
- VII zejména v heterozygotní formě u nás občas nacházíme
- X vzácný
- funkční poruchy trombocytů ( mimo rámec této lekce )

## Druhotné defekty

- sekundární poruchy zejména společně ff. II, VII, IX, X
- u těžkých poruch synthetické funkce hepatocytu
- Trombocytopenická purpura ( mimo rámec lekce )
- Autoimunní choroby, nádory, leukemie a podobné stavy.

# Trombofilní stavy

## Vrozené mutace

- F.Va Leiden G 1691 A s následkem resistance f.Va na APC (= na aktivovaný protein C-bodová mutace v genu pro protein C)
- Protrombinové molekuly (II) G20210 A
- Nedostatek AT III
- Nedostatek PC
- Nedostatek PS
- Nedostatek F.XII (posunovač p. Hagemann v USA)
- Mutace fibrinogenu
- Poruchy fibrinolýzy (polymorfismy PAI-1 G4/G4,G4/G5)
- Lepivé destičky

---

tendence k trombózám a emboliím plicnice  
za zátěžových stavů, jako operace, imobilizace, těžké  
infekce, POAK, nádorů atp.



# Trombofilní stavy

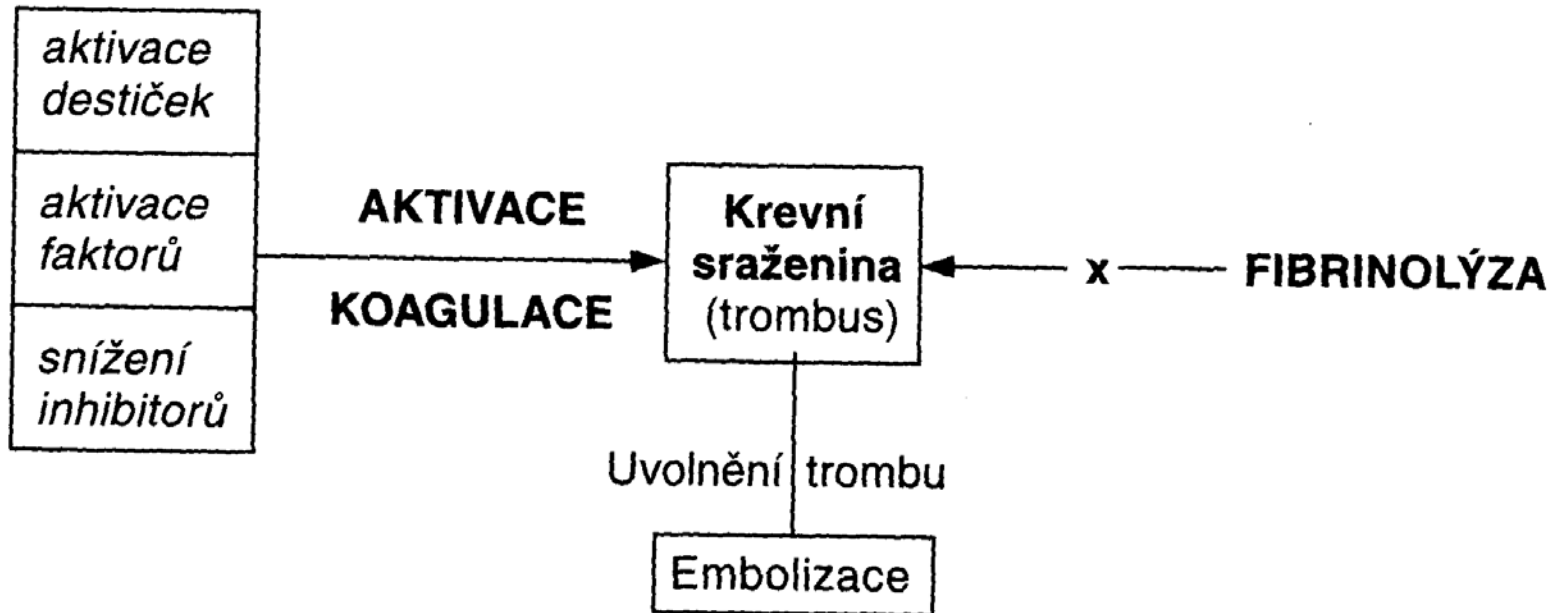
## Druhotné poruchy

- Trombocytemie
- Zhoubné nádory
- Antifosfolipidový syndrom (APS) – diagnosa pomocí LA, APA (ACLA IgG, IgA, IgM, anti-beta 2 GP)
- Získaná aktivace srážení, tzv. DIC (u septických stavů, zejména meningokokové sepse, polytraumat, atd.)

# Polymorfismy PAI-1 genu

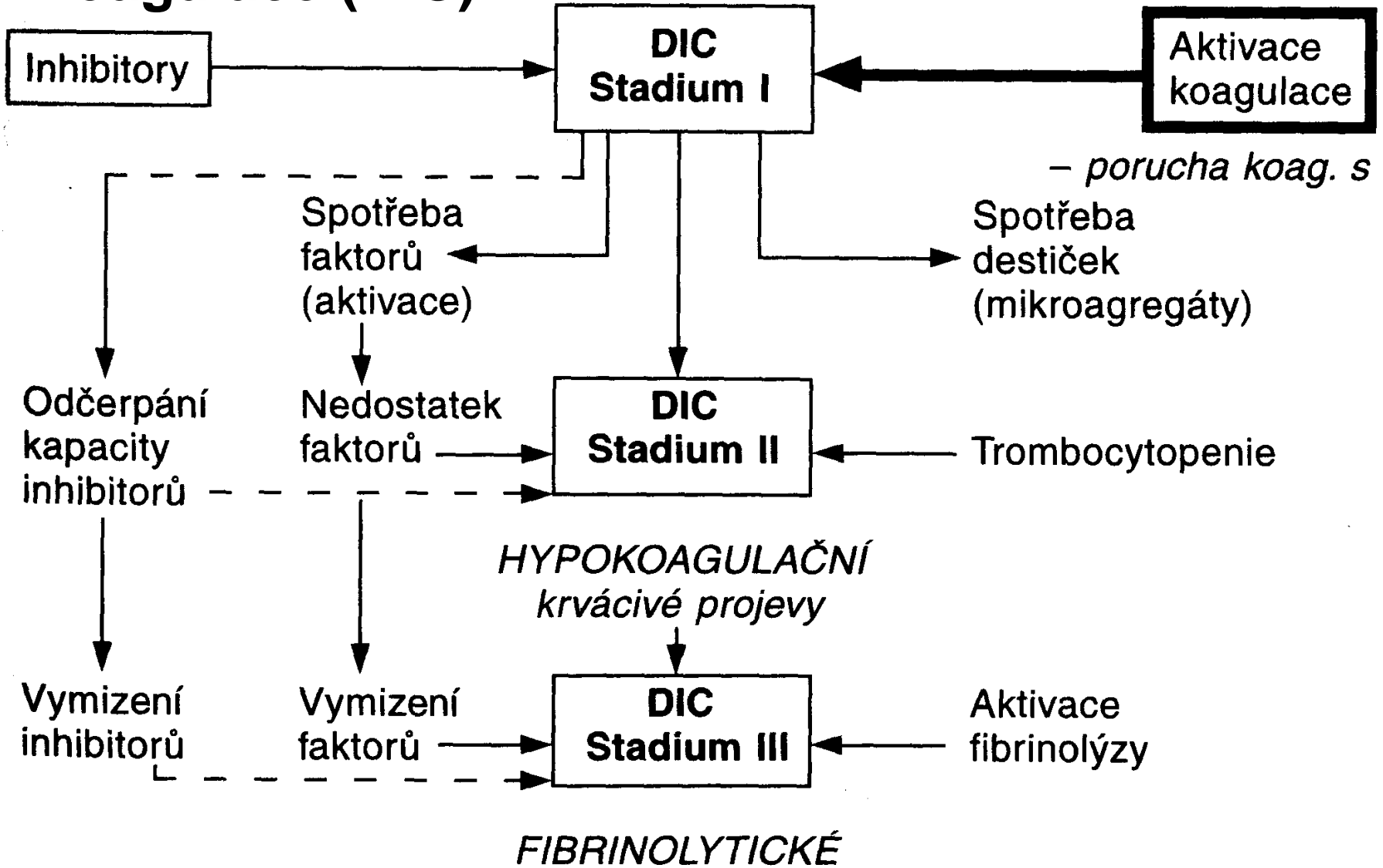
- Varianta 4 G = zvýšený přepis genu = zvýšení inhibitoru plasminogen-aktivátoru PAI 1
- Genotyp 5G/5G nerizikový, G4/G5 rizikovější, G4/G4 nejrizikovější ( obvykle při současné jiném trombofilním markeru, vyšší riziko trombozy po OP, IM atd.)

# VZNIK TROMBU A NÁSLEDNÁ EMBOLIZACE



# Diseminovaná intravaskulární koagulace (DIC) *HYPERKOAGULAČNÍ*

- Zánět
- rozpad tkáně



*Krev ztrácí schopnost se srážet (těžké krvácivé projevy)*

# Koagulace u stressu a zánětu atp.

- **Buněčné trauma, zánět nádor a např.těhotenství**  
(CRP, složky KOMPLEMENTU, CERULOPLASMIN, alfa-1-ATry, FBG, vWF, VIII, V, VII, PAI-1 ale i t-PA, PLG, alfa-2-makroglobulin)  
zvyšují se hladiny tzv. reaktantů ( proteinů) akutní fáze  
možnost spoluúčasti aktivace Mono ( IL -1, TNF, oxid.stressem, oběhovým šokem, katecholaminy  
rovněž
- **Stress, včetně psychického, věk, přílišná tělesná námaha**  
( FBG, vWF, VIII, VII )  $\longrightarrow$  zvýšená tvorba trombinu, Thc,  
ale i aktivace Fbl ( zvýšení t-PA, pokles Plg a alfa-1-AP, vyšší FDP)
- **Možnost aktivace postprandiálně F VII na VIIa prostř.Triglyceridů a F.IX-IXa (nejvíce večer a pozdě večer)**

# Antikoagulancia

## Pro laboratorní (in vitro) potřebu

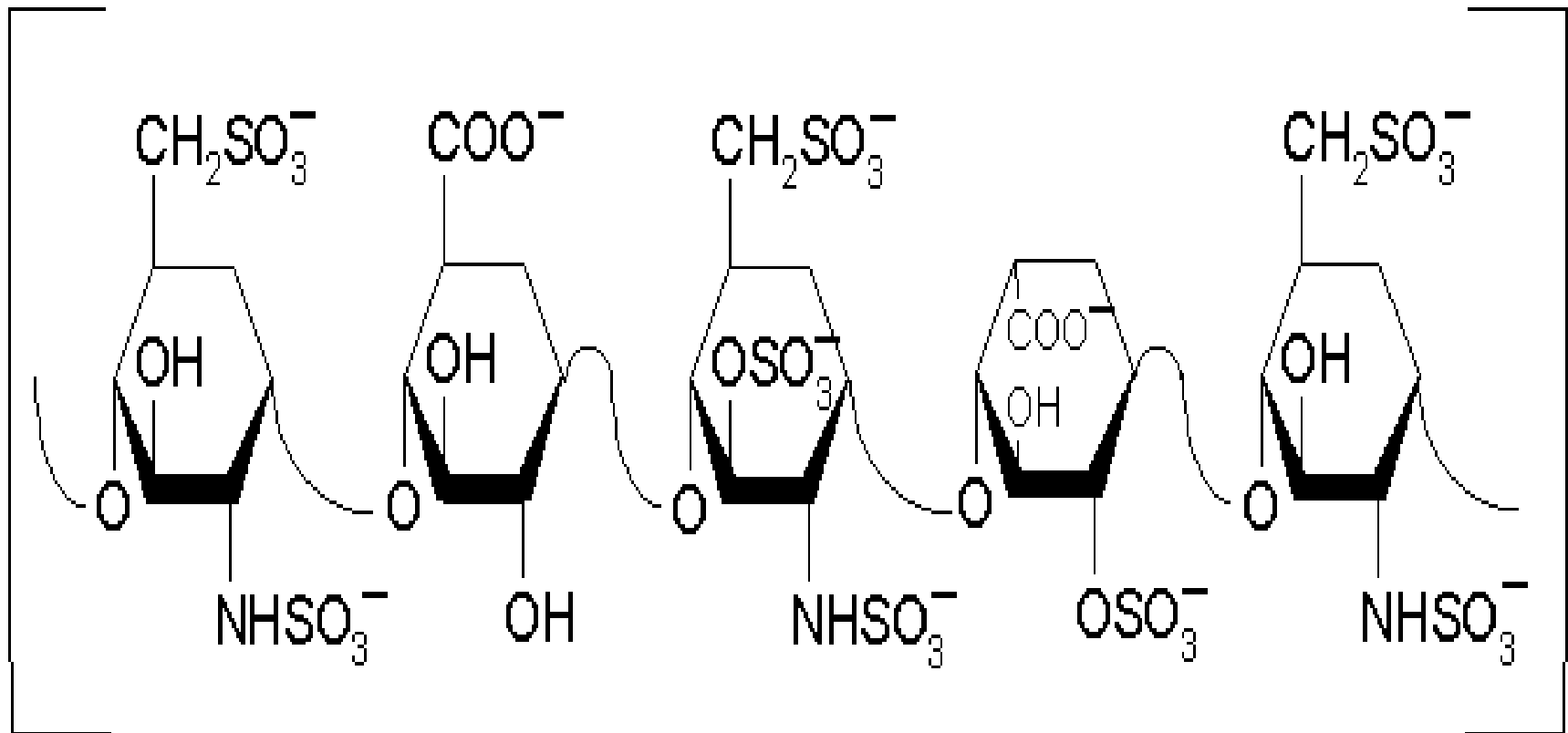
- nefrakcionovaný heparin (m.h.kolem 30 000 daltonů)
- Natrium citrát
- Natrium oxalát
- Na<sub>2</sub> EDTA
- K<sub>2</sub> EDTA

## Používaná léčebně

- nefrakcionovaný heparin-UFH- anti-IIa
- frakcionovaný-nízkomolekulární-anti-Xa (m.h.3000-6000)
- heparansulfát
- Hirudoidy
- nepřímá antikoagulancia kumarinového typu  
(kumarin,Markumar,Pelentan, Warfarin) ( způsob účinku )
- Nová perorální antikoagulancia =NOAK

# Heparin

Heparin je glykosoaminoglycan – v němž alternuje kyselina glukuronová a zbytky N-acetyl-D-glukosamin sulfátu - a acetylové skupiny. Prům. mol. hmotn - 12.000 daltonů



# Heparin – Původ a funkce

- **Heparin** – původně izolován z jater
- Nacházen v žírných buňkách (mast cells)- skladování histaminu a proteáz
- Rychle odbouráván makrofágy
- Normálně se v krvi nenachází
- **Heparan sulfate** – podobný heparinu, ale méně polymerizován – obsahuje méně sulfátových skupin
- Nachází se na povrchu endotheliálních buněk a v extracelulární matrix
- Interaguje s cirkulujícím antitrombinem, čímž zajišťuje přirozený antithrombotický mechanismus



# Nízkomolekulární hepariny (LMWH)

průměrná mol. hmotnost 4,500 daltonů - 15 monosacharidových jednotek

- **lepší absorpce** - vyšší biologická dostupnost
- **delší biologický poločas**
- **lepší prediktabilita odezvy na podanou dávku**
- **neváží se na plasmatické proteiny, makrofágy, endotheliální buňky**
- **mohou být aplikovány podkožně (subkutánně=s.c.) bez laboratorního monitorování u ambul.nemocných**
- **jsou vylučovány nezměněny ledvinami (nepoužívat u selhání ledvin!)**
- **Menší riziko trombocytopenie a krvácení**

# LMW heparins

- Dalteparin (FRAGMIN)
- Enoxaparin (CLEXANE)
- Nadroparin (FRAXIPARINE)
- Reviparin (CLIVARIN)
- Uses:
  1. prevention of venous thromboembolism
  2. Treatment of venous thrombosis, pulmonary embolism and unstable angina pectoris
  3. prophylaxis in total knee arthroplasty

# Heparinem-indukovaná thrombocytopenie

- 50% pokles počtu trombocytů -  $<150,000/\mu\text{l}$ )
- Protilátky proti komplexům heparinu s destičkovým faktorem 4
- U 3-5% pacientů 5 až 10 dnů od začátku heparinové terapie
- Nižší incidence při použití nízkomolekulárních heparinů (LMWH)
- U 1/3 of patients je předcházena trombózou
- Může být životohrožující
- Nutno okamžitě zastavit léčbu heparinem
- Použít alternativní anticoagulas – lepirudin nebo danaparoid

# Jiná parenterální antikoagulancia

## Danaparoid (ORGARAN)

- Neheparinový glykosoaminoglykan ( 84% heparan sulfát)
- Podporuje inhibici Xa antithrombinem
- Prophylaxe hluboké žilní trombózy
- U pacientů s heparinem indukovanou trombocytopenií (HIT)

## Lepirudin (REFLUDAN)

- recombinantní derivát **hirudinu** (přímého inhibitoru thrombinu, přítomného u pijavic)
- U pacientů s heparinem indukovanou trombocytopenií

# Selektivní inhibitory F.Xa

**Nepřímé** (působí prostr. komplexu s AT III, který se kovalentně váže na Xa a inaktivuje ho):

- **Fondaparinux**-první biosyntetický selektivní pentasacharid (nepůsobí heparinem indukovanou trombocytopenií = HIT, ale nemá specifické antidotum) – použití: profylaxe TrombEmbolicke Nemoci = TEN
- další preparáty:
- Idraparinux, Idrabiotaparinux, SSR126517

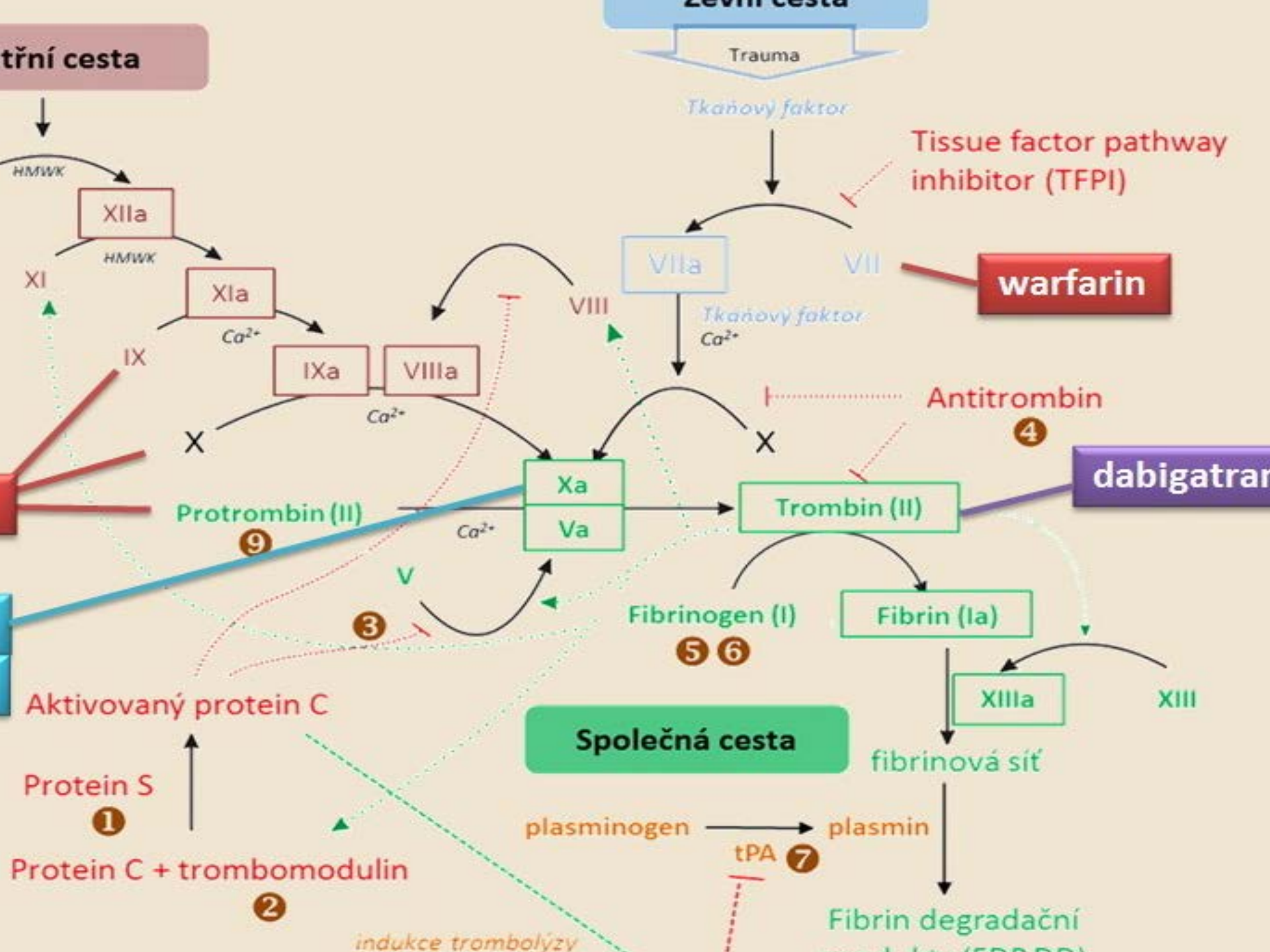
# Selektivní inhibitory Xa

přímé - váží se přímo na aktivní místo F. Xa a to i když je vázaný v komplexu nebo na fibrin

- Rivaroxaban (Xarelto) první perorální (prevence trombózy a tromboembolie, ortopedické operace - endoprotézy, prevence CMP u srdeční fibrilace síní)
- Apixaban p. o. (Eliquis) použití totéž
- -----
- Betrixaban p. o.
- Razaxaban p. o.
- a LY517717 p. o.
- YM150 p. o. (zatím se prakticky neužívají)
- -----
- DX9056a parenterální, nepeptidický argininový derivát s reverzibilní vazbou na Xa
- Otamixaban parenterální.

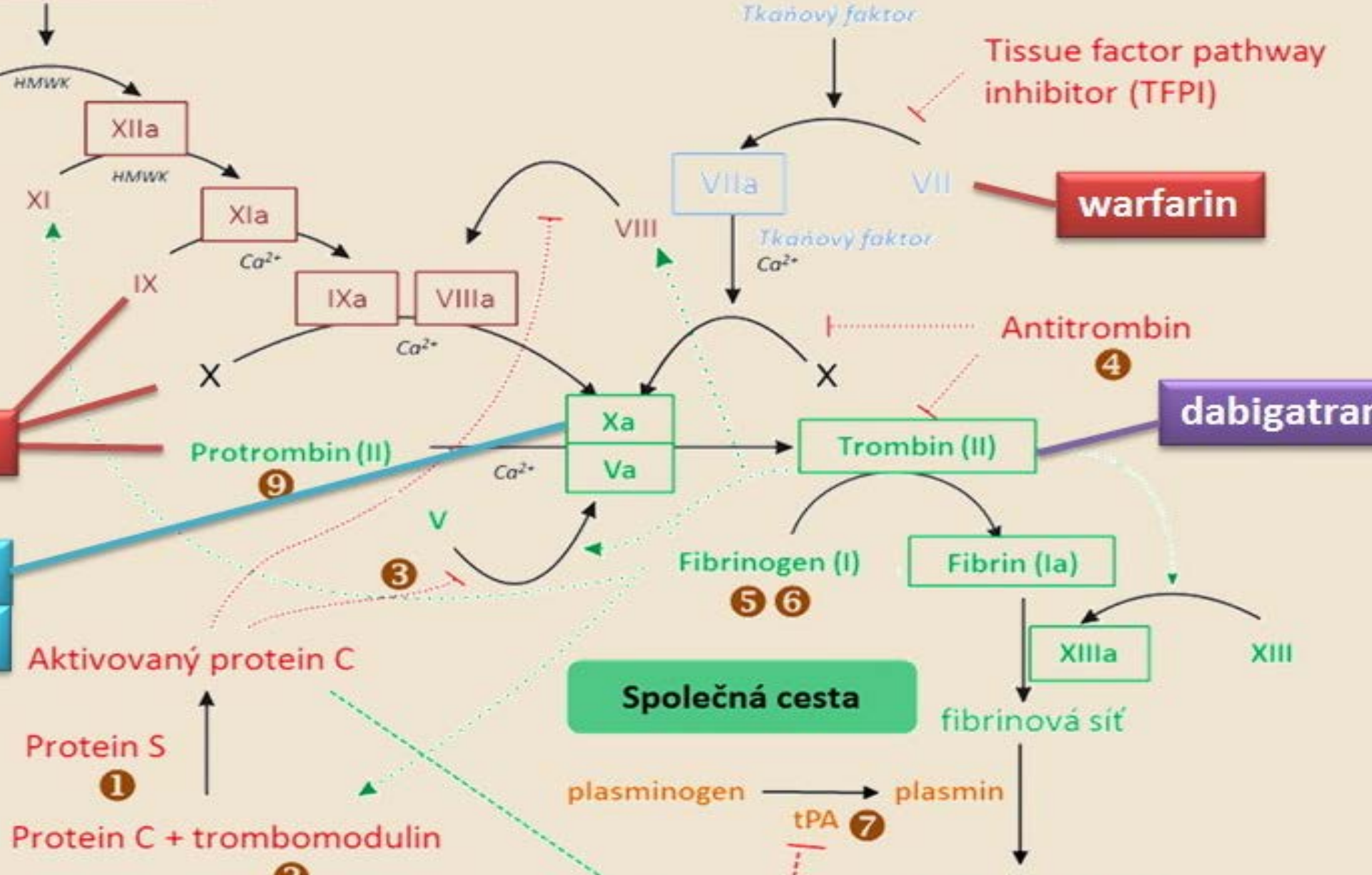
# Přímý inhibitor trombinu

- Dabigatran etaxilát ( Pradaxa ) - inhibuje přímo selektivně TROMBIN = F. II<sup>a</sup>
- Spojuje výhody perorálního podání a působení inhibice až na hlavní konečný prokoagulační enzym na konci kaskády = **aktivovaný trombin**
- (praktické užití např. jako prevence žilní trombózy a embolie, ortopedické operace, prevence CMP u fibrilace síní,)



**vnější cesta**

**Levní cesta**



**Společná cesta**

Tissue factor pathway inhibitor (TFPI)

**warfarin**

**dabigatran**

Antitrombin 4

Aktivovaný protein C

Protein S 1

Protein C + trombomodulin 2

indukce trombolýzy

plasminogen

plasmin

tPA 7

Fibrin degradační produkt (FDP)

fibrinová síť

Fibrinogen (I) 5 6

Fibrin (Ia)

Protrombin (II) 9

Trombin (II)

Xa  
Va

Antitrombin 4

VIIa

VII

**warfarin**

Tkaňový faktor  
Ca<sup>2+</sup>

VIII

IXa

VIIIa

X

X

IX

XI

XIIIa

HMWK

XIIa

XII

Trauma

Tkaňový faktor

**vnitřní cesta**

**Společná cesta**

fibrinová síť

plasminogen

plasmin

tPA 7

Fibrin degradační produkt (FDP)

Fibrinogen (I) 5 6

Fibrin (Ia)

Protrombin (II) 9

Trombin (II)

Xa  
Va

Antitrombin 4

VIIa

VII

**warfarin**

Tkaňový faktor  
Ca<sup>2+</sup>

VIII

IXa

VIIIa

X

X

IX

XI

XIIIa

HMWK

XIIa

XII

Trauma

Tkaňový faktor

**vnitřní cesta**

**Společná cesta**

fibrinová síť

plasminogen

plasmin

tPA 7

Fibrin degradační produkt (FDP)

Fibrinogen (I) 5 6

Fibrin (Ia)

Protrombin (II) 9

Trombin (II)

Xa  
Va

Antitrombin 4

VIIa

VII

**warfarin**

Tkaňový faktor  
Ca<sup>2+</sup>

VIII

IXa

VIIIa

X

X

IX

XI

XIIIa

HMWK

XIIa

XII

Trauma

Tkaňový faktor

**vnitřní cesta**

**Společná cesta**

fibrinová síť

plasminogen

plasmin

tPA 7

Fibrin degradační produkt (FDP)

Fibrinogen (I) 5 6

Fibrin (Ia)

Protrombin (II) 9

Trombin (II)

Xa  
Va

Antitrombin 4

VIIa

VII

**warfarin**

Tkaňový faktor  
Ca<sup>2+</sup>

VIII

IXa

VIIIa

X

X

IX

XI

XIIIa

HMWK

XIIa

XII

Trauma

Tkaňový faktor

**vnitřní cesta**

**Společná cesta**

fibrinová síť

plasminogen

plasmin

tPA 7

Fibrin degradační produkt (FDP)

Fibrinogen (I) 5 6

Fibrin (Ia)

Protrombin (II) 9

Trombin (II)

Xa  
Va

Antitrombin 4

VIIa

VII

**warfarin**

Tkaňový faktor  
Ca<sup>2+</sup>

VIII

IXa

VIIIa

X

X

IX

XI

XIIIa

HMWK

XIIa

XII

Trauma

Tkaňový faktor

**vnitřní cesta**

**Společná cesta**

fibrinová síť

plasminogen

plasmin

tPA 7

Fibrin degradační produkt (FDP)

Fibrinogen (I) 5 6

Fibrin (Ia)

Protrombin (II) 9

Trombin (II)

Xa  
Va

Antitrombin 4

VIIa

VII

**warfarin**

Tkaňový faktor  
Ca<sup>2+</sup>

VIII

IXa

VIIIa

X

X

IX

XI

XIIIa

HMWK

XIIa

XII

Trauma

Tkaňový faktor

**vnitřní cesta**

**Společná cesta**

fibrinová síť

plasminogen

plasmin

tPA 7

Fibrin degradační produkt (FDP)

Fibrinogen (I) 5 6

Fibrin (Ia)

Protrombin (II) 9

Trombin (II)

Xa  
Va

Antitrombin 4

VIIa

VII

**warfarin**

Tkaňový faktor  
Ca<sup>2+</sup>

VIII

IXa

VIIIa

X

X

IX

XI

XIIIa

HMWK

XIIa

XII

Trauma

Tkaňový faktor

**vnitřní cesta**

**Společná cesta**

fibrinová síť

plasminogen

plasmin

tPA 7

Fibrin degradační produkt (FDP)

Fibrinogen (I) 5 6

Fibrin (Ia)

Protrombin (II) 9

Trombin (II)

Xa  
Va

Antitrombin 4

VIIa

VII

**warfarin**

Tkaňový faktor  
Ca<sup>2+</sup>

VIII

IXa

VIIIa

X

X

IX

XI

XIIIa

HMWK

XIIa

XII

Trauma

Tkaňový faktor

**vnitřní cesta**

**Společná cesta**

fibrinová síť

plasminogen

plasmin

tPA 7

Fibrin degradační produkt (FDP)

Fibrinogen (I) 5 6

Fibrin (Ia)

Protrombin (II) 9

Trombin (II)

Xa  
Va

Antitrombin 4

VIIa

VII

**warfarin**

Tkaňový faktor  
Ca<sup>2+</sup>

VIII

IXa

VIIIa

X

X

IX

XI

XIIIa

HMWK

XIIa



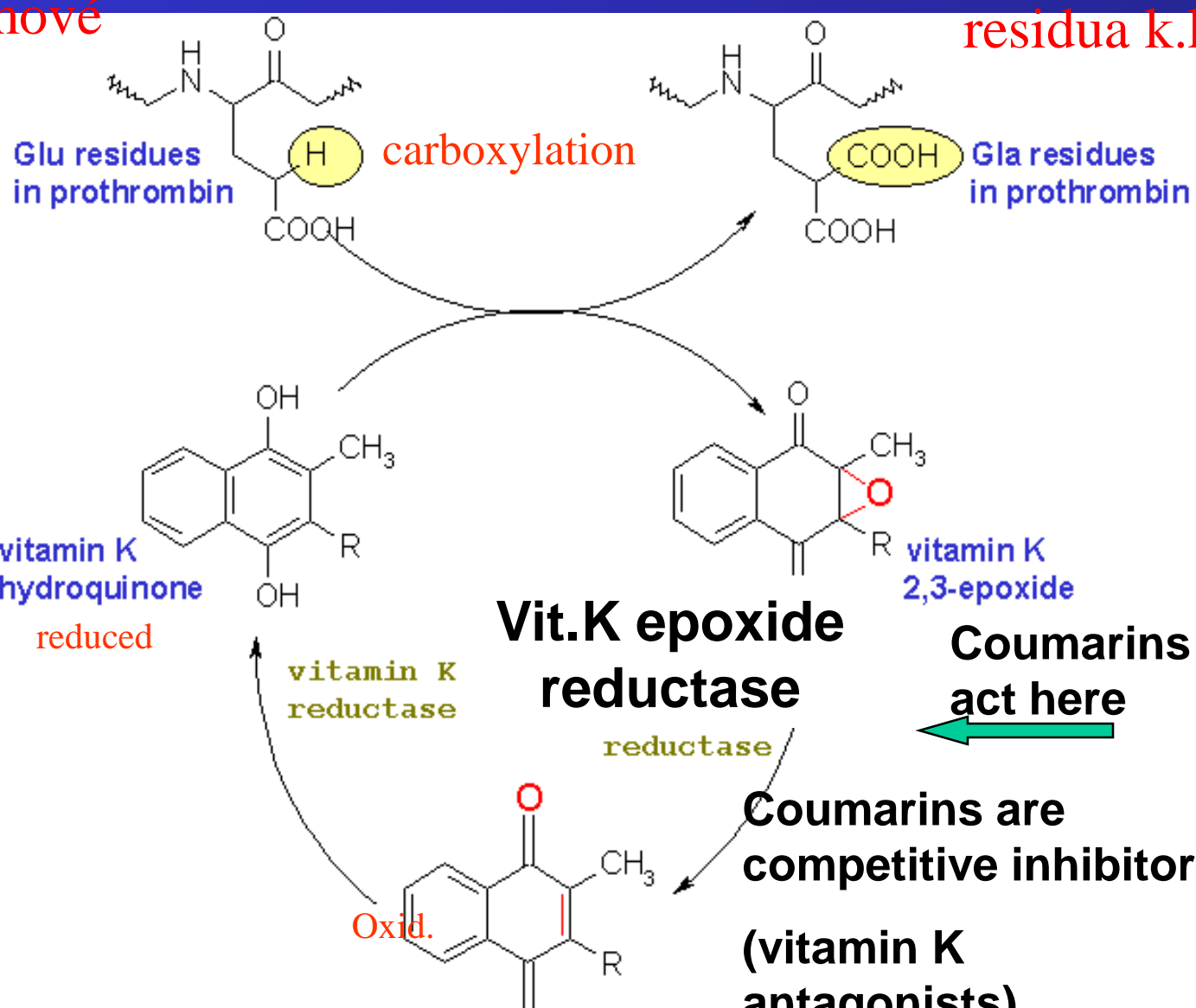
# Aktivátory fibrinolysy a ostatní inhibitory

- . Sulodexid-syntetický aktivátor fbl (Vessel due F)
- Tenektepláza - synt.aktivátor PLG, odvozený od t -PA (Metalyse)
- Rekombinantní TFPI- tifacogin
- . Syntetický PC (Ceprotin) a aktivovaný PC (Xigris)

# Oral anticoagulants – 4-hydroxycoumarins

Gamma glutamic acid residues of clotting factors must be carboxylated for enzyme activity

Factors II, I, IX, X, prot. C and  
**Action of Coumarins**



# Karboxylace glutamové kyseliny

-rozhoduje o neaktivitě a aktivitě faktoru

K. glutamová      K.gamakarboxyglutamová  
neaktivní faktory      aktivní faktory



gama-glutamyl-karboxyláza

faktor karboxylace koag.faktorů

Redukovaný účinný ← oxidovaný neúčinný

K vitamin epoxid reduktáza      K vitamin  
hydrochinon      epoxid



inhibice epoxid reduktázy Warfarinem

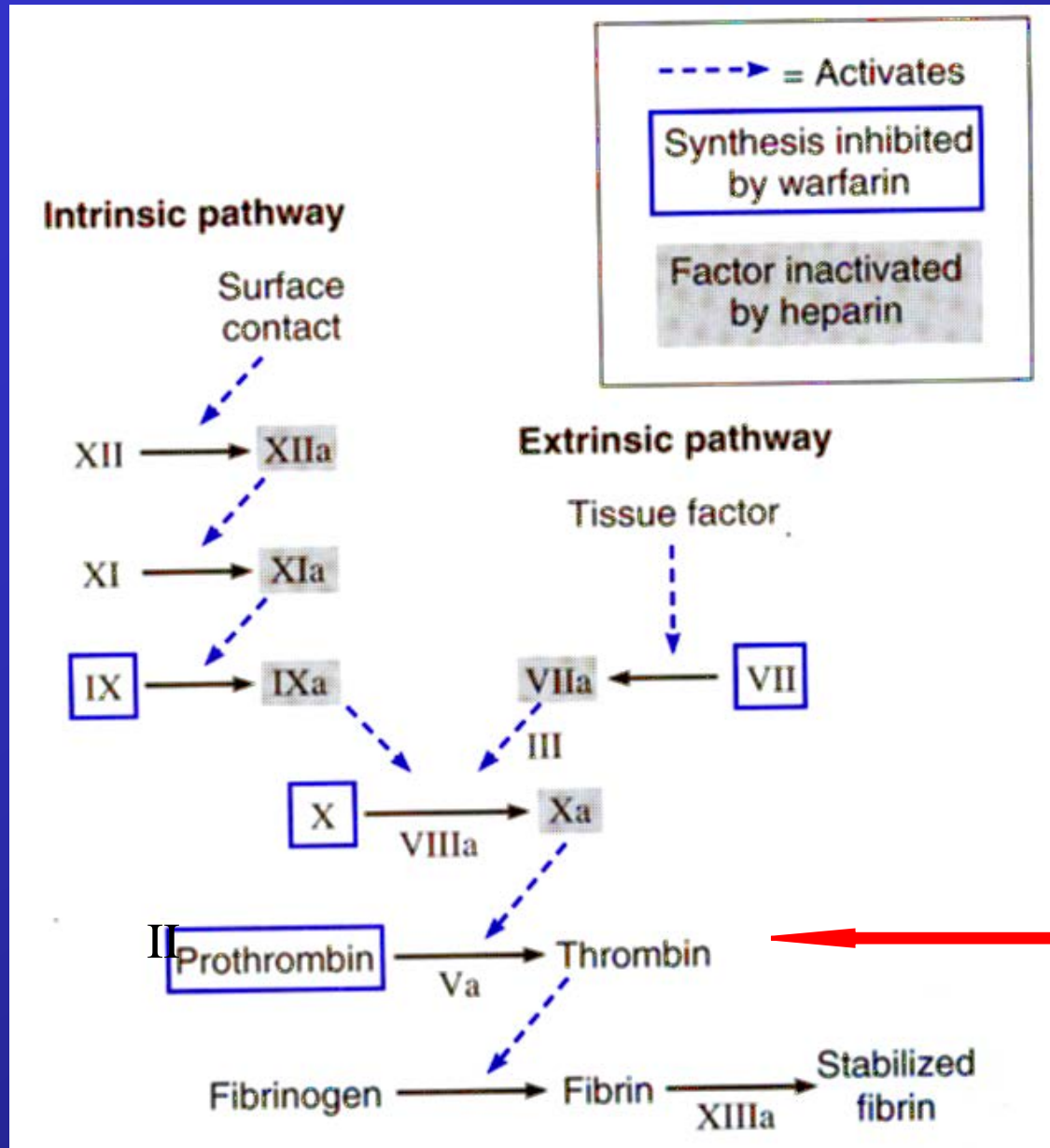
# Warfarin - klinické užití

- Prevence akutní hluboké žilní trombózy a plicní embolie, perif. žilní trombózy
- Perioperační prevence žilního throboembolismu, zejména u pacientů po ortopedických nebo gynekologických operacích)
- Prevence systémové embolizace u pacientů s myokardiálním infarktem, umělou srdeční chlopní, nebo chronickou fibrilací srdečních síní

## Warfarin – má antidotum

- Vitamin K (orálně, nebo parenterálně)

# Blood coagulation cascade-inhibition/inactivation



Effect of  
Warfarin

Factor IIa

# Způsoby vyšetřování hemokoagulace

- Metody zejména koagulační (měření doby vzniku koagula)-aktivita
- Pomocí chromogenních substrátů-aktivita
- (Stanovení manuální (vodní lázeň, zachycení vzniklého koagula háčkem) )nyní
- Koagulometry - poloautomaty, automaty (mechanické, optické, elektromechanické)
- Imunologické - koncentrace

# Základní metody vyšetřování koagulace

- Krev ve skleněné zkumavce se sráží za 4-8 min
- Chelace  $\text{Ca}^{2+}$  zabraňuje srážení
- -----
- Rekalifikace plasmy vede ke srážení krve za 2-4 min
- Přidání negativně nabitých fosfolipidů a kaolinu (aluminium silikát) vede ke srážení plasmy za 26-33 sec
- = **aktivovaný parciální tromboplastinový čas**
- Přidání tromboplastinu (mozkový extrakt – tkáňový faktor a fosfolipidy) vede ke srážení plasmy za 12-14 sec = **protrombinový čas**

# Skupinové testy

- Protrombinový test-PT (nebo protrombinový čas): zachycuje poruchy ff. II, VII, IX, X a silný pokles FBG.
- výsledek v R = ratio
- výsledek pro antikoagul.léčbu v INR

Parciální tromboplastinový čas-APTT:  
zachycuje poruchy ff. VIII, IX, XI, XII,  
(prekalikrein, HMWK , APL)

výsledek v R = ratio



# International normalized ratio (INR)

$$\text{INR} = (\text{PT}_{\text{pt}} / \text{PT}_{\text{ref}})^{\text{ISI}}$$

INR = protrombinový čas plasmy pacienta /  
protrombinový čas referenční plasmy umocněno  
hodnotou ISI (používá se pro p.p.antikoag.léčbu)

**ISI** (international sensitivity index) = hodnota  
citlivosti tromboplastinu ve srovnání s mezinárodní  
tromboplastinovou standartou WHO

**Cílové hodnoty** pro perorální antikoagulační léčbu  
jsou mezi **2 a 3**.

# Stanovení jednotlivých faktorů srážení

- II, V, VII, X
- Faktory vnější (extrinsic) cesty aktivace protrombinu
- Princip:
  - vyšetřovaná plasma
  - deficitní plasma
  - kalciový tromboplastin      koagulační čas - fibrinové koagulum
-

# Stanovení jednotlivých faktorů srážení

- Faktory vnitřní (intrinsic) cesty aktivace protrombinu: VIII, IX, XI, XII
- Princip
- vyšetřovaná plasma
- deficitní plasma
- aktivátor+fosfolipid  
(inkubace)
- $\text{Ca}^{++}$  ←————→ koagulační čas  
do vytvoření  
fibrinového koagula
- 
-

# Obvyklé důvody hemokoagulačního vyšetření

1. k odhalení příčiny krvácivého stavu  
( vrozeného, získaného )
2. vyšetření před invazivními výkony
3. vyšetření hyperkoagulačního stavu  
( DIC, sklon k trombózám )
4. kontrola antitrombotické léčby

# Konec presentace

- Děkujeme za pozornost