

HEMOSTÁZA (zástava krvácení)

= soubor mechanismů, které na jedné straně brání vzniku krvácení, na straně druhé staví krvácení již vzniklé

- Reakce cév v místě poranění
- Činnost krevních destiček
- Srážení krve

HEMOSTÁZA (zástava krvácení)

Dokonalá rovnováha několika systémů:

- endotel cévní stěny
- kolagen ležící pod endotelem
- tonus cév
- počet a kvalita krevních destiček
- srážlivé a fibrinolytické systémy
- charakter proudění v cévě

brání jak *krvácení*, tak *intravaskulárnímu srážení* krve

REAKCE CÉV

Vasokonstrikce

Stupeň vasokonstrikce závisí na stupni poškození cévy

Serotonin z destičkových granul

Adrenalin

Fibrinopeptidy

FUNKCE DEŠTIČEK

- Ochrana organismu před ztrátou krve
- Udržování integrity cévní stěny a hojení poranění cév (destičkový růstový faktor z α -granul)
- Zánětlivé reakce, změny permeability kapilár, odstraňování cizorodých látek, virů, bakterií, odvržení transplantátu...
- Nosič pro různé látky absorbované na povrch destiček

KREVNÍ DESTIČKY (TROMBOCYTY)

Bezjaderné, bezbarvé, granulované, nejmenší formované elementy krevní

Vznik: megakaryocyty kostní dřeně pod vlivem kolonie stimulujících faktorů – interleukinů (*IL-1, IL-3, IL-6*) a granulocyty a makrofágy stimulujícího faktoru (*GM-CSF*)

Počet: 200 000 – 500 000 v ml, z toho třetina ve slezině a dvě třetiny v cirkulaci

Žádné věkové ani pohlavní rozdíly v počtu

Trombocytoza – po splenektomii

Velikost: 2 – 4 μm průměr, 0,5 – 1 μm tloušťka, 4 – 8 fl
objem

Tvar: hladké, okrouhlé disky

Tvar udržován cytoskeletem - prstenec mikrotubulů kolem periferie, silně invaginovaná membrána, kanalikulární systém spojený s extracelulárním prostorem.

Membrána: obsahuje receptory pro přilnutí na vhodné povrchy, např. kolagen, von Willebrandův faktor, fibrinogen

Cytoplasma: obsahuje aktin, myosin, glykogen, lysozomy a

Granula:

denzní granula (neproteinové substance – serotonin, ADP, adenonukleotidy) a *α granula* (proteinový obsah: faktory srážení, destičkový růstový faktor – PDGF)

Glykokalyx: 10 – 50nm, směs bílkovin a mukopolysacharidů (faktory systému srážení, ionty, AMK, histamin, léky...)

Doba života: 9 – 12 dní, poločas – cca 4 dny

FUNKCE TROMBOCYTŮ

- Akutní narušení endotelu – primární hemostáza

1. Adheze

- Obnažení subendoteliálních struktur (kolagen) = spouštěcí signál pro vazbu bivalentních proteinů - vWf - von Willebrandova faktor (resp. fibronektinu)
- Vazba povrchových glykoproteinů trombocytů GP Ia/IIa/IIb/GP Ib/IX/V
- Následná adheze trombocytů k poškozenému endotelu.

2. Aktivace

- vazba glykoproteinů spouští aktivaci povrchových struktur trombocytů
- hlavní roli hraje aktivace receptorů pro ADP - tromboxan A₂ - trombin - serotonin – adrenalin
- exprese receptorů GP IIb/IIIa
- tvar destičky se mění z diskovitého na ameboidní (s pseudopodii) a přitom se uvolňují proagregační a chemotaktické látky

3. Degranulace

- Uvolnění působků (sekrece) z trombocytu se děje za spolupůsobení několika faktorů: TXA_2 , Ca^{2+} , PLC, myosinkináza – lehký řetězec (MLCK)
- Degranulace = uvolnění ADP, tromboxanu A_2 , serotoninu, adrenalinu, PDGF (platelet-derived growth factor)

4. Agregace

- Aktivace trombocytů vyvolá strukturní změny s obnažením vazných míst receptorů typu glykoproteinů GP IIb/IIIa (početně nejhojnější GPs)
- Aktivace GP IIb/IIIa receptorů umožní vzájemné propojení vždy dvou destiček prostřednictvím bivalentních proteinů: molekuly fibrinogenu, vWf, vitronektinu, atd.

5. Závěrečná fáze

- Působením TXA_2 a serotoninu dojde k obnažení a uvolnění fosfolipidů (PL) na povrchu destičky
- PL za účasti Ca^{2+} významně potencují polymerizaci rozpustného fibrinogenu na nerozpustnou fibrinovou síť = aktivace koagulační kaskády

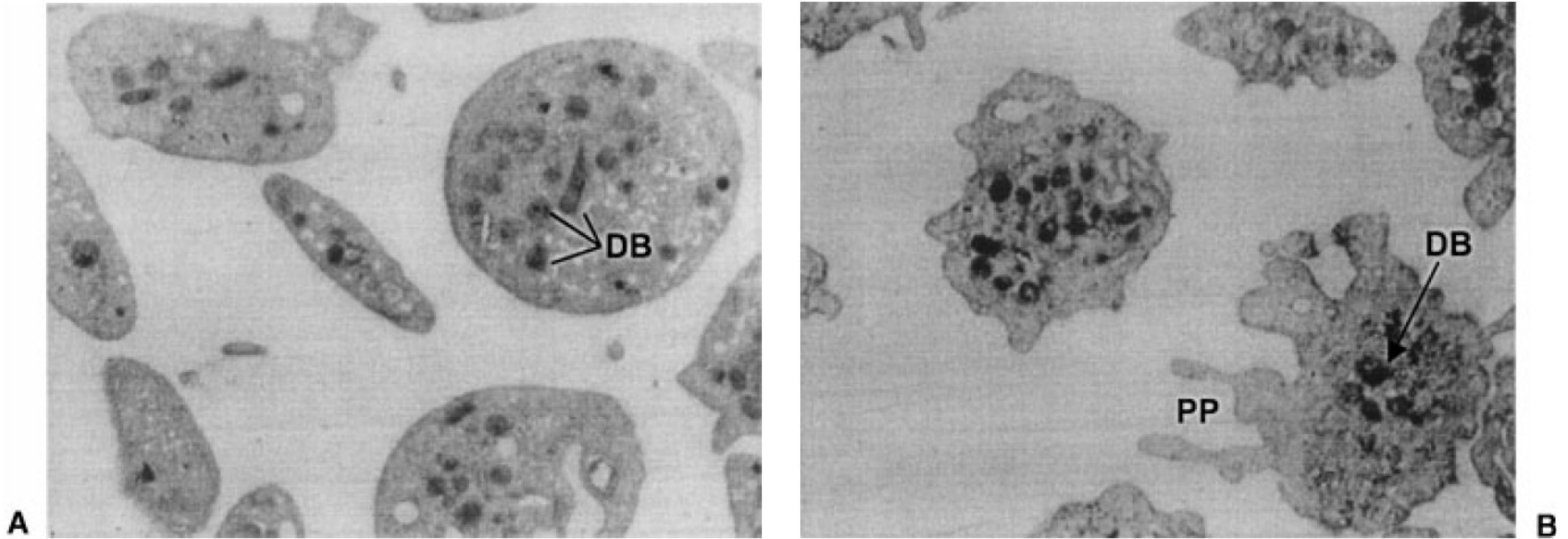


Figure 1 Morphology of human platelets. (A) Thin section of discoid resting platelets with evenly distributed granules. (B) Thin section of stimulated platelets, showing formation of pseudopodia and centralization of granules. DB, dense body; PP, pseudopodium. Magnification $\times 21,000$.

Jurk K, Kehrel BE: **Platelets: Physiology and biochemistry. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis* 2005, 31(4):381-392.**

Table 1 Agonists, Ligands, and Receptors Important for Platelet Function

Platelet Function	Agonists, Ligands	Receptors
Initial and firm adhesion	vWF	GPIb/V/IX
	TSP1	GPIb/V/IX, CD36
	Collagen	$\alpha_2\beta_1$, GPVI, CD36
	Fibrinogen	$\alpha_{IIb}\beta_3$
	Fibronectin	$\alpha_5\beta_1$ ⁷³
	Vitronectin	$\alpha_v\beta_3$ ⁷⁷
	Laminin	$\alpha_6\beta_1$ ⁷⁴
	High shear stress	GPIb/V/IX
Activation and amplification	Thrombin	PAR1, PAR4, GPIb/V/IX
	ADP	P2Y ₁ , P2Y ₁₂
	TxA ₂	TP α , TP β
	Epinephrine	α_{2A}
	Serotonin	5-HT _{2A}
	MMP-2, MMP-1 ^{75,76}	?
	Immune complexes	Fc γ IIa
	Complement factors	C1q, C3a, C5a receptors
	Plasmin	?
	Streptokinase	?
Aggregation/amplification and stabilization	Fibrin	Activated $\alpha_{IIb}\beta_3$
	vWF	Activated $\alpha_{IIb}\beta_3$, GPIb/V/IX
	TSP-1 ⁷⁷	Activated $\alpha_{IIb}\beta_3$, CD36, IAP
	Fibronectin	Activated $\alpha_{IIb}\beta_3$
	sCD40L	Activated $\alpha_{IIb}\beta_3$
	Gas6	Axl ^{78,79}
	SDF-1, TARC, MDC	CXCR4, CCR4 ⁸⁰⁻⁸²

vWF, von Willebrand factor; TSP1, thrombospondin-1; ADP, adenosine diphosphate; TxA₂, thromboxane A₂; MMP, matrix metalloproteinase; IAP, integrin associated protein; SDF, stromal cell-derived factor; TARC, thymus and activation-regulated chemokine; MDC, macrophage-derived chemokine.

Jurk K, Kehrel BE:
**Platelets: Physiology and
 biochemistry. *Seminars in
 Thrombosis and
 Hemostasis* 2005,
 31(4):381-392.**

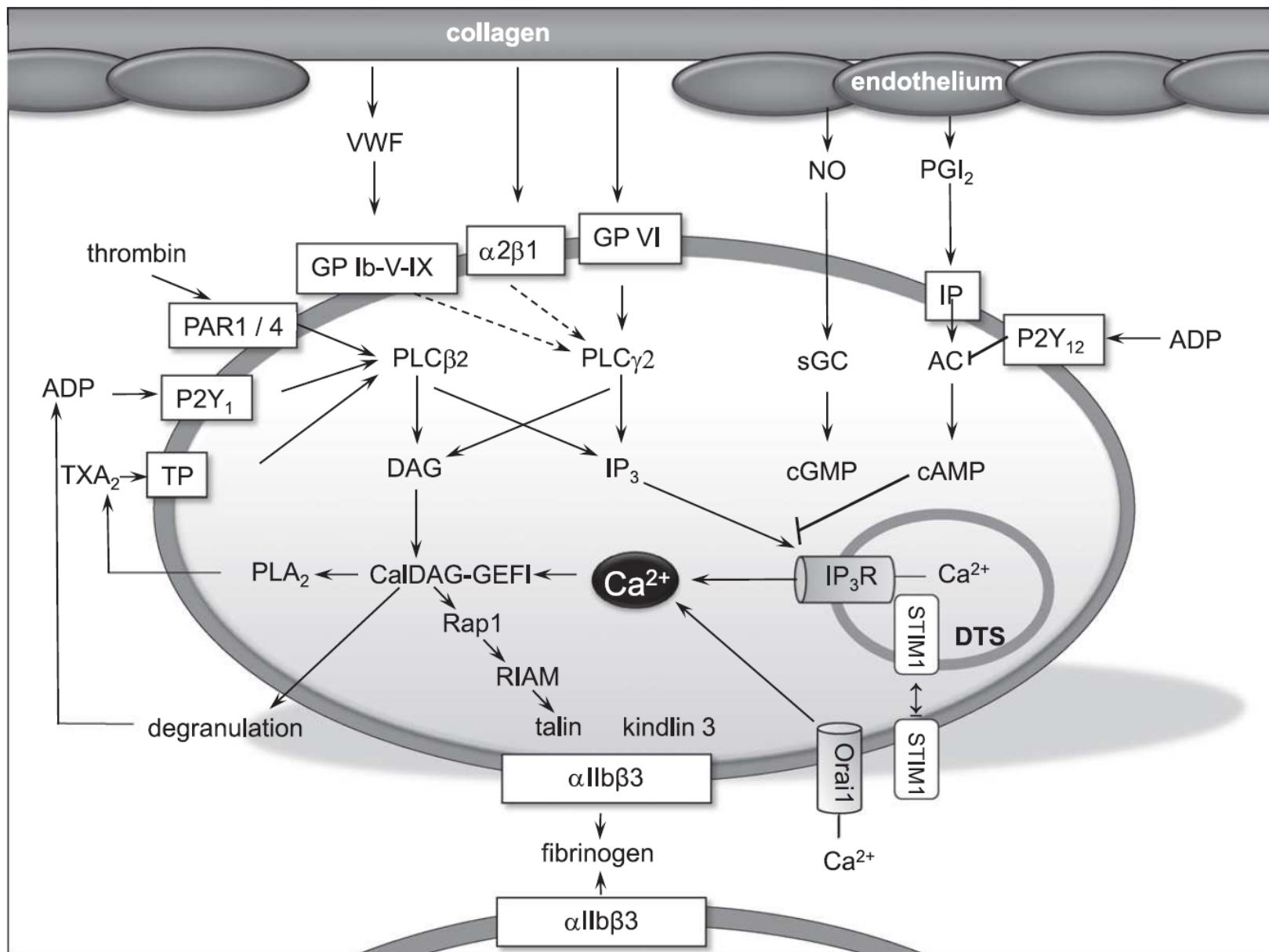


Fig. 1. Schematic overview of the main platelet receptors and effectors involved in platelet activation, amplification, aggregation and inhibition.

**Table
16.4**

Factors Involved in Platelet Function

Chemical Factor	Source	Activated by or Released in Response to	Role in Platelet Plug Formation	Other Roles and Comments
Collagen	Subendothelial extracellular matrix	Injury exposes platelets to collagen	Binds platelets to begin platelet plug	N/A
von Willebrand factor (vWF)	Endothelium, megakaryocytes	Exposure to collagen	Links platelets to collagen	Deficiency or defect causes prolonged bleeding
Serotonin	Secretory vesicles of platelets	Platelet activation	Platelet aggregation	Vasoconstrictor
Adenosine diphosphate (ADP)	Platelet mitochondria	Platelet activation, thrombin	Platelet aggregation	N/A
Platelet-activating factor (PAF)	Platelets, neutrophils, monocytes	Platelet activation	Platelet aggregation	Plays role in inflammation; increases capillary permeability
Thromboxane A ₂	Phospholipids in platelet membranes	Platelet-activating factor	Platelet aggregation	Vasoconstrictor; eicosanoid
Platelet-derived growth factor (PDGF)	Platelets	Platelet activation	N/A	Promotes wound healing by attracting fibroblasts and smooth muscle cells

DĚJE V TROMBOCYTECH PO AKTIVACI RECEPTORŮ

Aktivace PLC \Rightarrow PIP₂ se štěpí na IP₃ a DAG

IP₃ mobilizuje Ca²⁺ z ER

\uparrow Ca²⁺ \Rightarrow

1. aktivace PLA₂ \Rightarrow
aktivace dráhy kyseliny
arachidonové \Rightarrow \uparrow TxA₂ =
 \uparrow degranulace

2. aktivace MLCK (Myosin
light-chain kinase)

\Rightarrow kontrakce
kontraktilního aparátu

\Rightarrow změna tvaru
destiček

\uparrow degranulace

DAG aktivuje PKC \Rightarrow

\uparrow degranulace

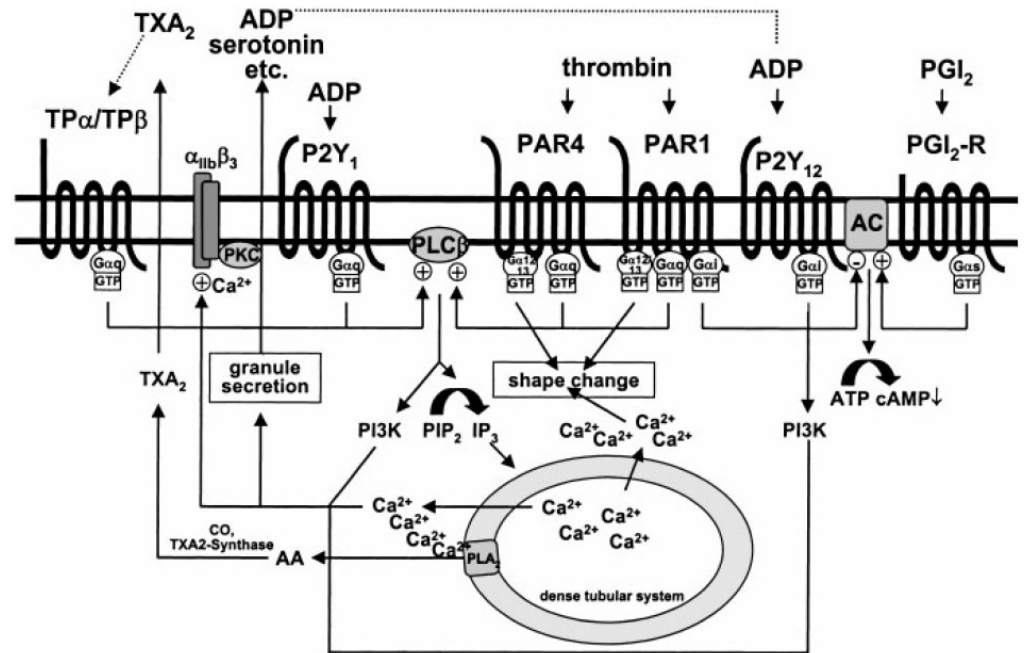


Figure 5 G-protein coupled seven-transmembrane receptor signaling in platelets. GTP, guanidine triphosphate; PKC, protein kinase C; TxA₂, thromboxane A₂; CO, cyclooxygenase; PI3K, phosphatidylinositol-3 kinase; PIP₂, phosphatidylinositolbiphosphate; IP₃, inosit-1,4,5-triphosphate; PLA, phospholipase A; AC, adenylatecyclase; cAMP, cyclic adenosine monophosphate; ADP, adenosine diphosphate; ATP, adenosine triphosphate; PGI₂, prostaglandin I₂; R, receptor; PAR, protease activated receptor.

Jurk K, Kehrel BE: **Platelets: Physiology and biochemistry. Seminars in Thrombosis and Hemostasis 2005, 31(4):381-392.**

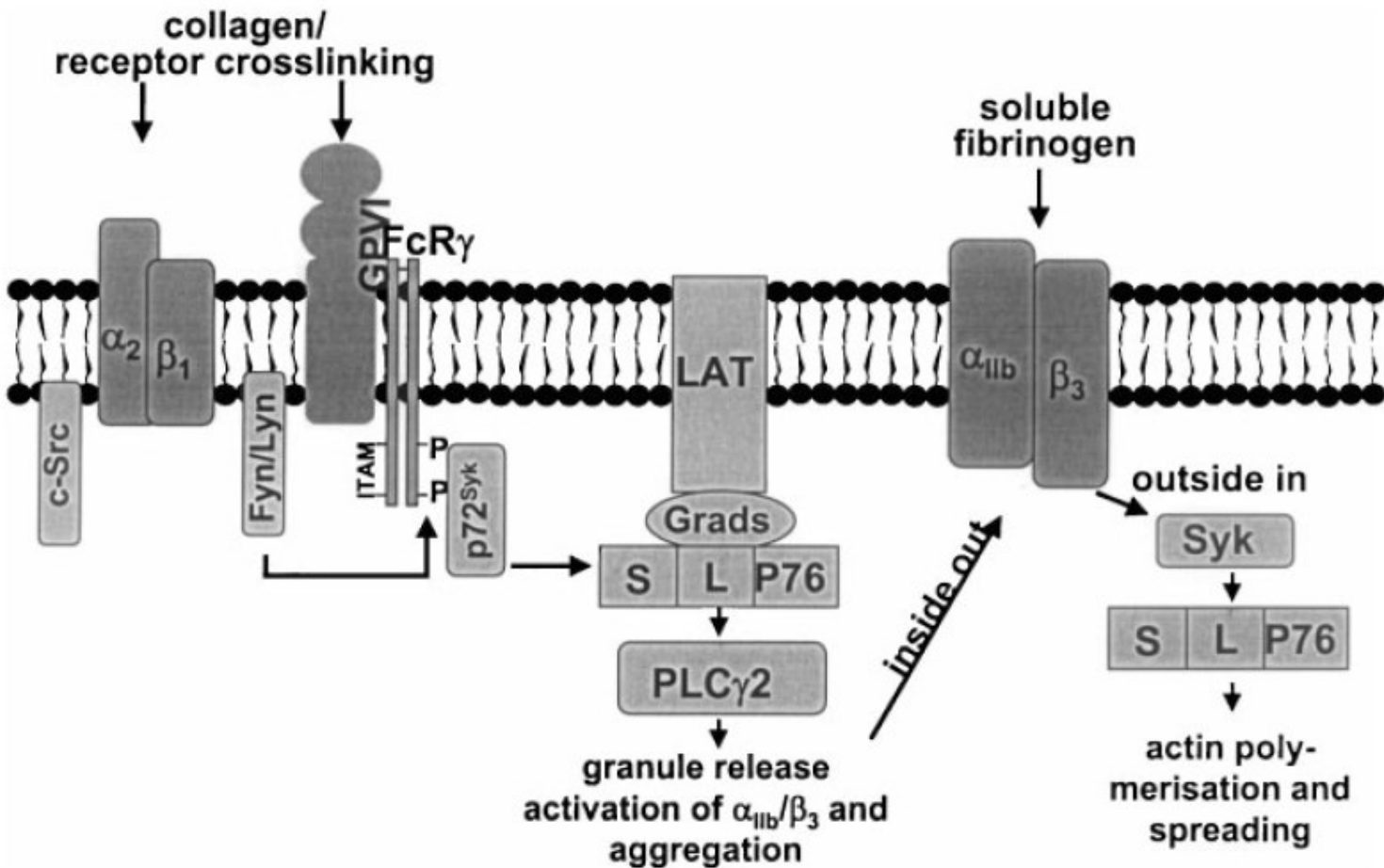
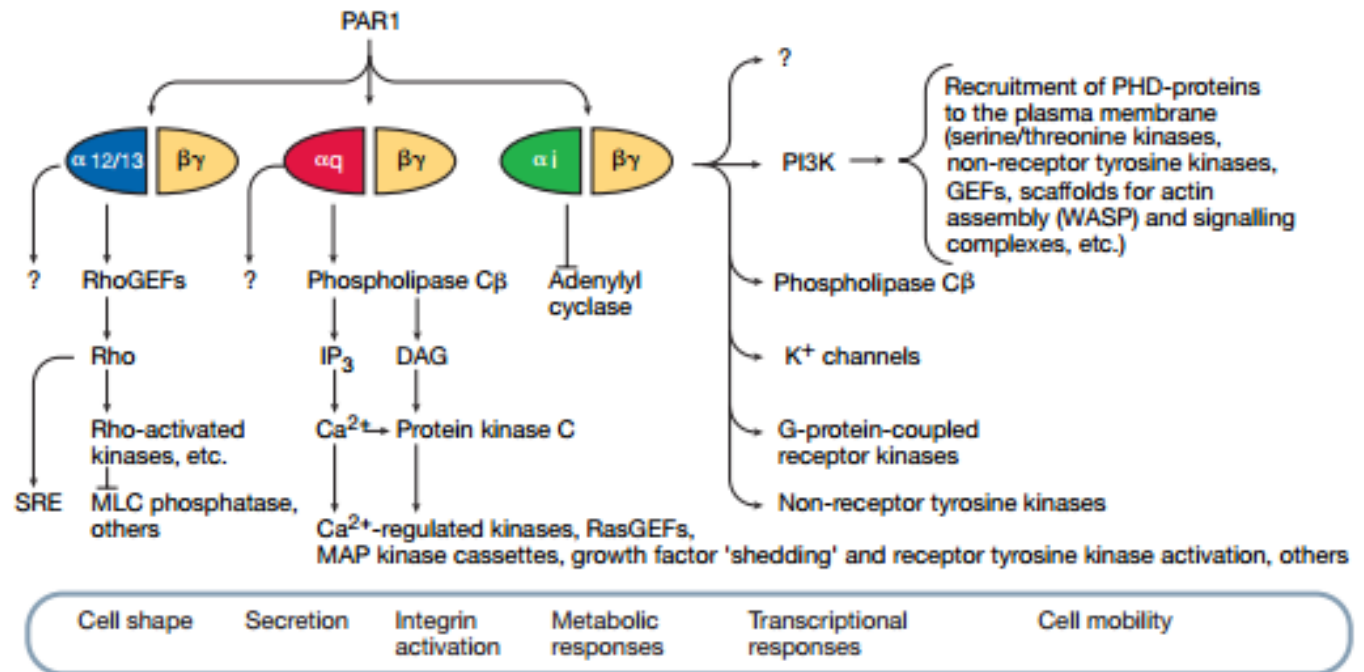


Figure 6 Nonreceptor tyrosine kinase mediated collagen signaling in platelets. Tyrosine-kinases: c-Src, Fyn/Lyn; non receptor tyrosine kinases; p72^{Syk}, Syk, adapter molecules: LAT, Grads, SLP76; PLC: phospholipase C; ITAM: immunoreceptor tyrosine based activation motif.

Thrombin receptor signalling

PAR1 can couple to members of the $G_{12/13}$, G_q , and G_i families⁴⁵⁻⁴⁷ to impact on a substantial network of signalling pathways, as shown in the figure. The α -subunits of G_{12} and G_{13} bind RhoGEFs (guanine-nucleotide exchange factors, which activate small G proteins such as Rho)⁴⁸⁻⁵⁰, providing a pathway to Rho-dependent cytoskeletal responses that are likely to be involved in shape changes in platelets⁵¹ and permeability and migration in endothelial cells^{52,53}. G_{α_q} activates phospholipase



Cp β ⁵⁴, triggering phosphoinositide hydrolysis which results in calcium mobilization and activation of protein kinase C. This provides a pathway to calcium-regulated kinases and phosphatases, GEFs, mitogen-activated protein (MAP) kinase cassettes, and other proteins that mediate cellular responses ranging from granule secretion, integrin activation and aggregation in platelets⁵⁵, to transcriptional responses in endothelial and mesenchymal cells. G_{α_i} inhibits adenylyl cyclase, an action known to promote platelet responses. $G_{\beta\gamma}$ subunits can activate phosphoinositide 3-kinase (PI(3)K)⁵⁶ and other lipid-modifying enzymes, protein kinases and ion channels⁵⁷. PI(3)K modifies the inner leaflet of the plasma membrane to provide attachment sites for a host of signalling proteins⁵⁸. PAR1 activation can also activate cell-surface 'shedases' which liberate ligands for receptor tyrosine kinases, providing a link between thrombin and receptors involved in cell growth and differentiation⁵⁹. The pleiotropic effects of PAR1 activation are consistent with many of thrombin's diverse actions on cells. IP₃, inositol trisphosphate; DAG, diacylglycerol; SRE, serum response element; PHD, pleckstrin homology domain.

ZÁSTAVA KRVÁCENÍ I. – bílý trombus

Adheze (obnažení cévní stěny – kolagen – receptory pro kolagen na trombocytu, laminin, von Willebrandův f.).

Aktivace a změna tvaru – kolagen, ADP, trombin. Vystavení glykoproteinů IIb/IIIa.

Sekrece (degranulace):

stimulace agregace – ADP

stimulace adheze – vWF a fibronectin

vasokonstrikce – serotonin, tromboxan A_2

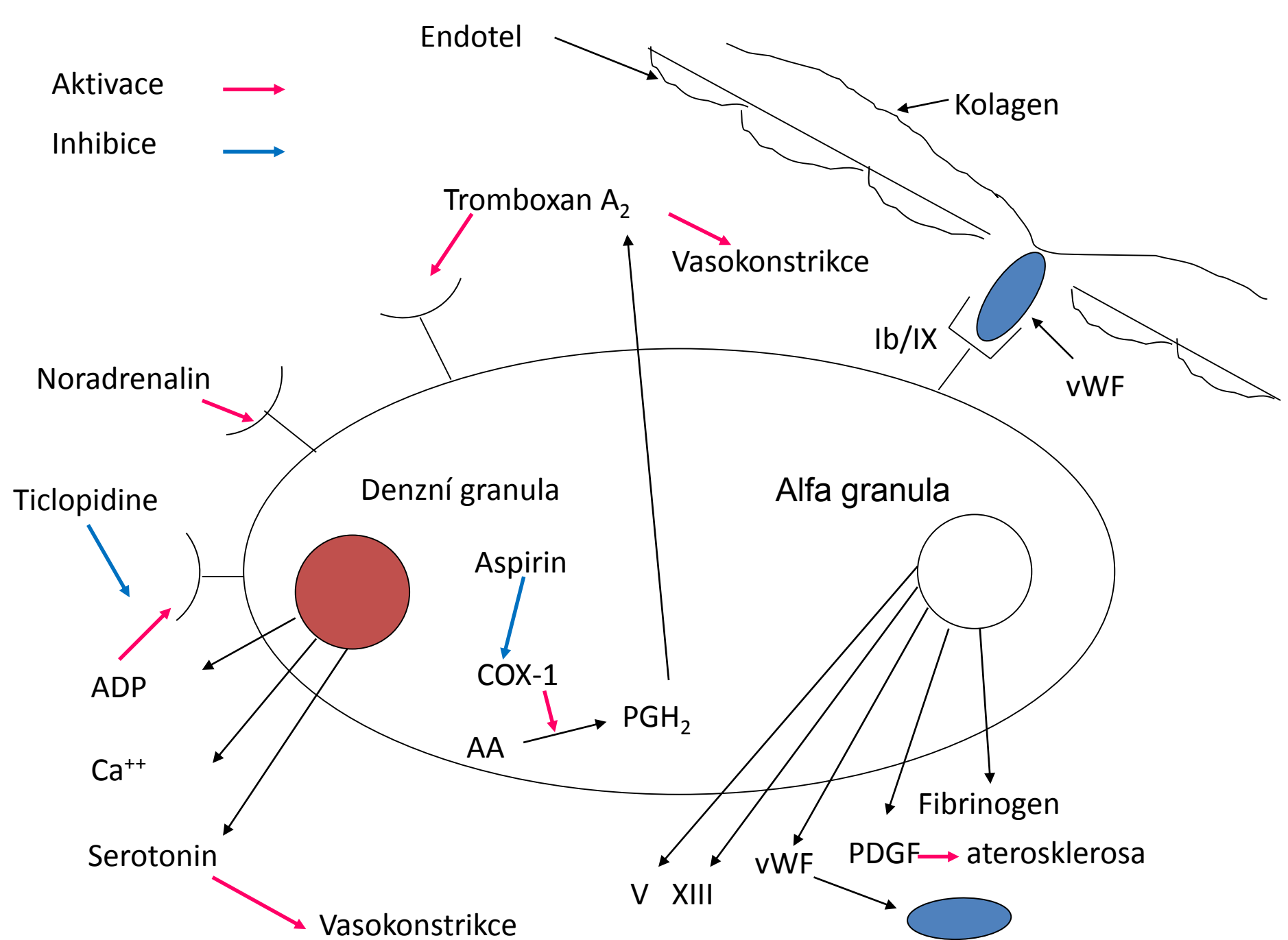
mitogenní účinky – růstový faktor (**PDGF**)

aktivace destiček a fagocytů – **PAF** (cytokin, G-coupled receptor, fosfolipaza C, DAG, zvýšení intracelulární koncentrace Ca^{2+} , fosfolipaza A_2 – kys. arachidonová – tromboxan A_2)!!! Význam kyseliny acetylosalicylové!!!

Agregace.

Vasokonstrikce.

Svinutí vnitřní vrstvy cévní stěny v místě poranění.



Inhibice 

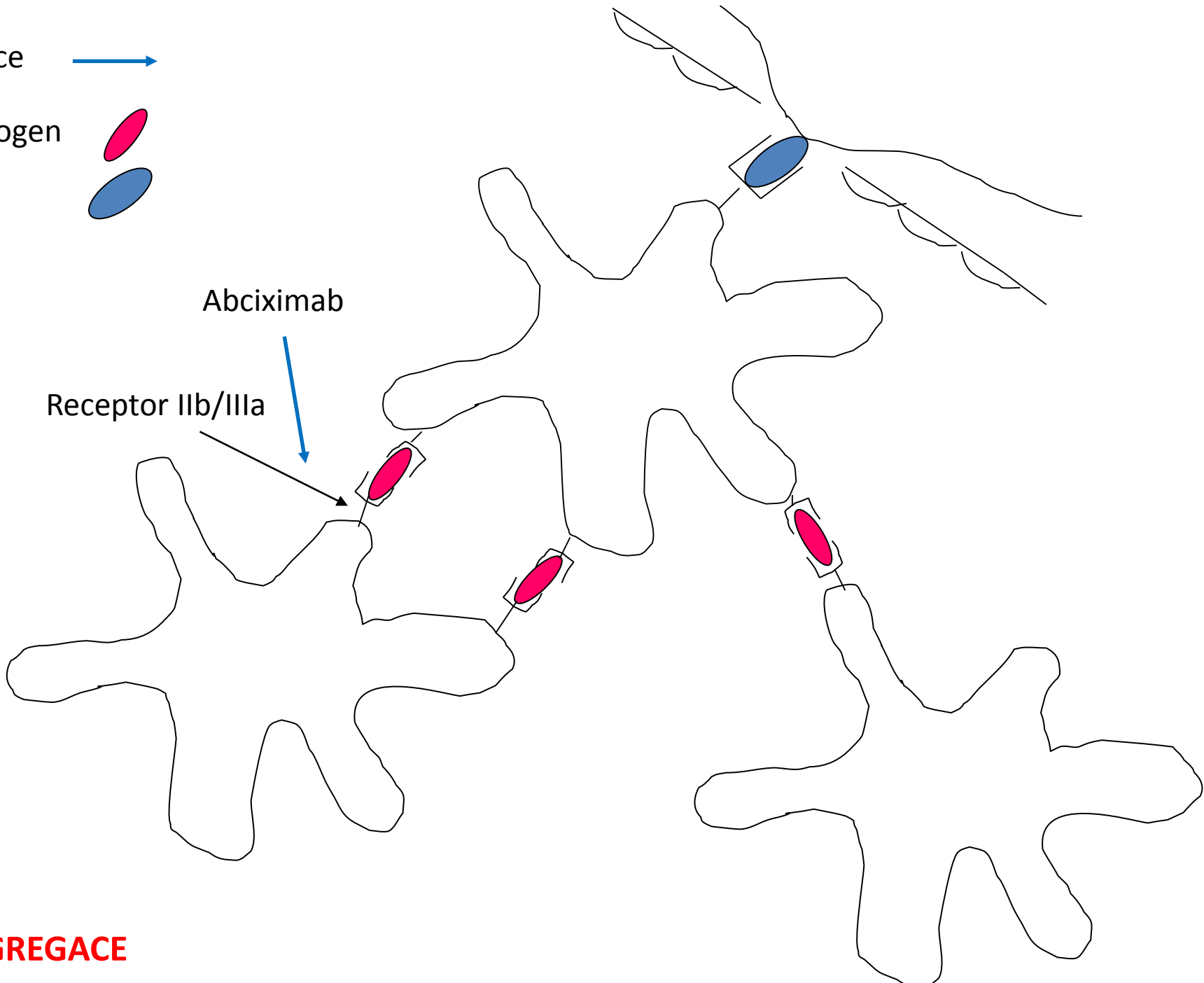
Fibrinogen 

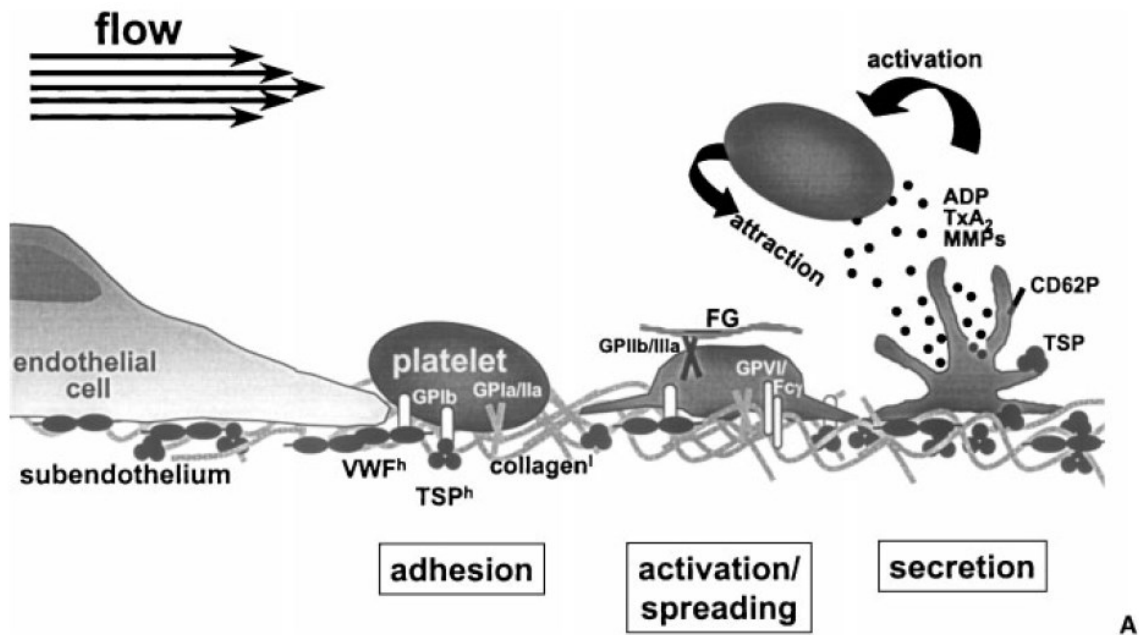
vWF 

Abciximab 

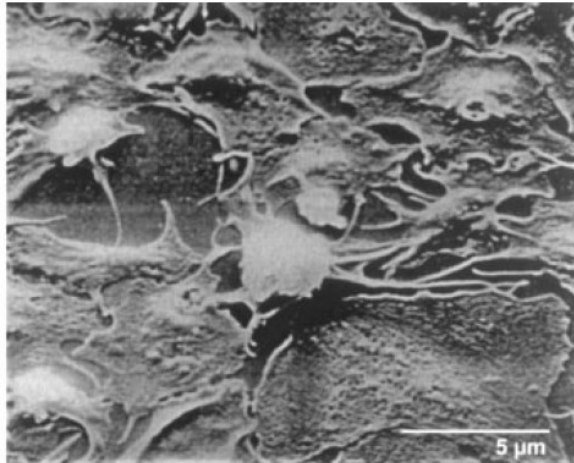
Receptor IIb/IIIa 

AGREGACE

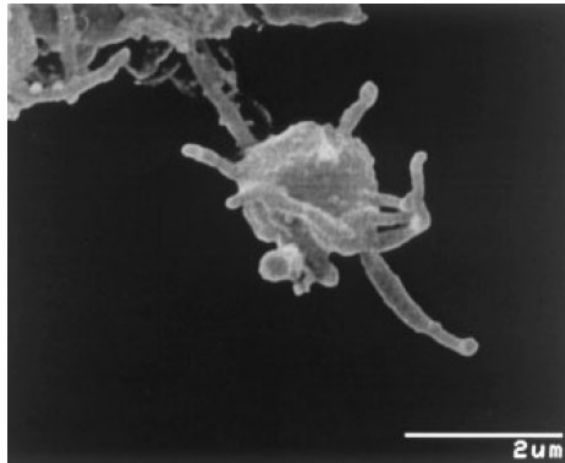




A



B



C

Figure 2 Primary hemostasis. (A) Platelets recruited from the circulation to the subendothelium of a damaged vessel wall adhere to vWF and TSP via GPIIb/IIIa under high shear conditions (h). Collagen serves as adhesive substrate for platelets (via GPIIb/IIIa and GPVI/Fcγ) under low shear conditions (l). Receptor clustering through multiple binding sites of matrix proteins induce activation of GPIIb/IIIa with subsequent binding of fibrinogen (FG) and platelet spreading. Activated platelets secrete several adhesive proteins, including TSP, which binds back to the platelet surface. Secreted secondary agonists (ADP, TxA_2 and MMPs) amplify activation and attraction of additional circulating platelets. (B) REM-preparation of human platelets adhered and spread on immobilized collagen. (C) Scanning electron microscope preparation of a thrombin-stimulated human platelet with marked pseudopodia. vWF, von Willebrand factor; TSP, thrombospondin; ADP, adenosine diphosphate; TxA_2 , thromboxane A_2 ; MMPs, matrix metalloproteinases.

Jurk K, Kehrel BE:
Platelets: Physiology and biochemistry. Seminars in Thrombosis and Hemostasis 2005, 31(4):381-392.

ZÁSTAVA KRVÁCENÍ II. – červený trombus

Protrombin (faktor X) – trombin

- sled enzymových reakcí
- anionické fosfolipidy (membrány trombocytů), vápenaté ionty

Fibrinogen – fibrin monomer – fibrin polymer (stabilizace, faktor III, Ca^{2+}).

Vnitřní systém – *vnější* systém aktivace faktoru X.

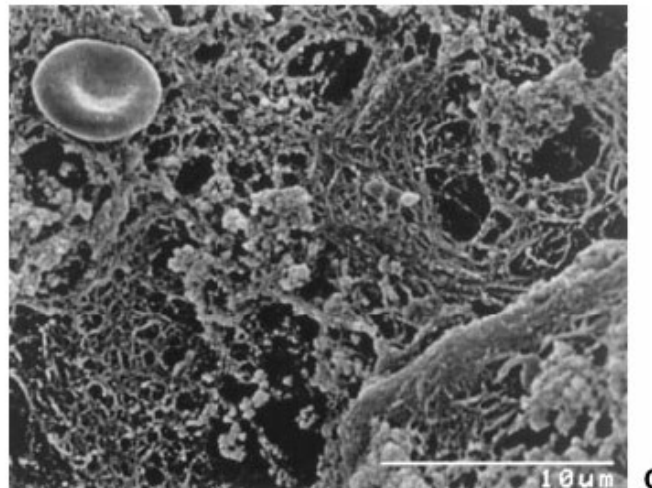
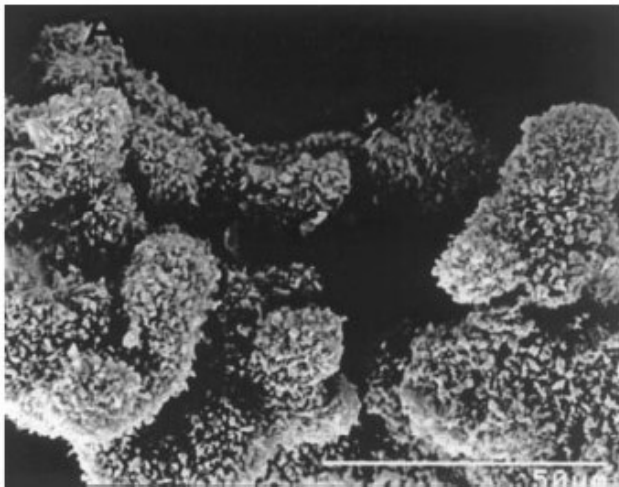
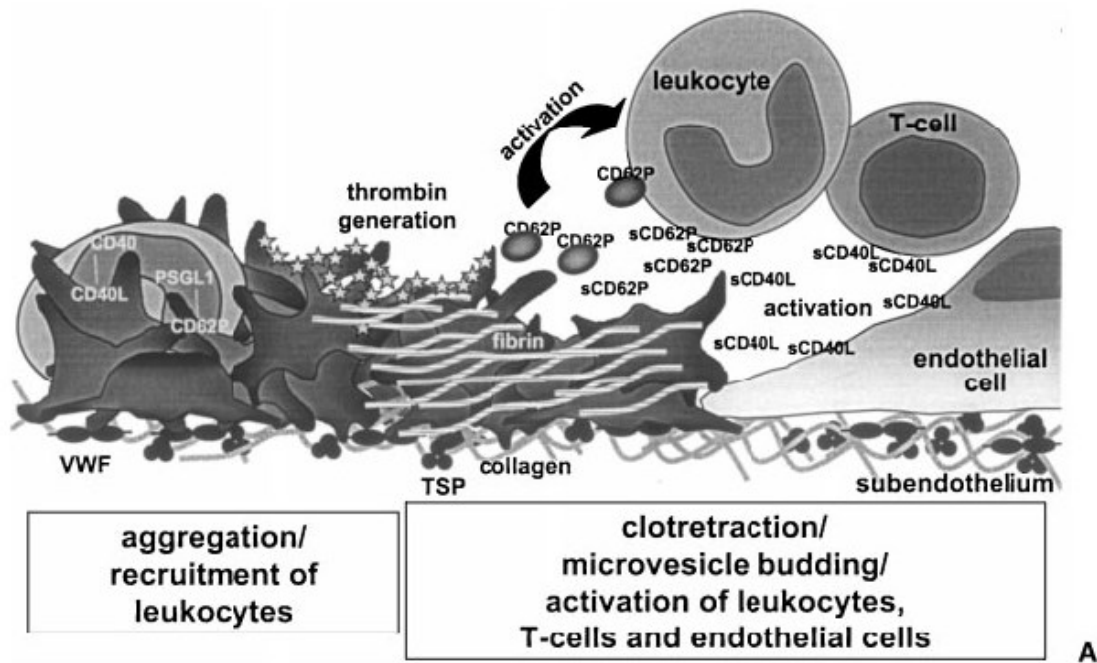


Figure 3 Aggregation and secondary hemostasis. (A) Fibrinogen or in high shear environments vWF bridges platelets through activated GPIIb/IIIa, leading to formation of an unstable platelet plug. Leukocytes are recruited to aggregated platelets via CD40/CD40L and PSGL1/CD62P interactions. Increased amounts of thrombin are generated on the platelet surface, which converts bound fibrinogen to fibrin, leading to plug stabilization and clot retraction. Microparticles as well as adhesion molecules (sCD62P, sCD40L) are shed from the platelet surface into the circulation as stimuli for leukocytes, T cells, and endothelial cells. (B) Scanning electron microscope preparation of a nonretracted platelet plug, induced by collagen. (C) REM-preparation of a platelet-fibrin clot with recruited red cell(s). vWF, von Willebrand factor; TSP, thrombospondin.

Jurk K, Kehrel BE:
**Platelets: Physiology
and biochemistry.
Seminars in
Thrombosis and
Hemostasis 2005,
31(4):381-392.**

Factors Involved in Coagulation

Chemical Factor	Source	Activated by or Released in Response to	Role in Coagulation	Other Roles and Comments
Collagen	Subendothelial extracellular matrix	Injury that exposes collagen to plasma clotting factors	Starts intrinsic pathway	N/A
von Willebrand factor (vWF)	Endothelium, megakaryocytes	Exposure to collagen	Regulates level of factor VIII	Deficiency or defect causes prolonged bleeding
Kininogen and kallikrein	Liver and plasma	Cofactors normally present in plasma pathway	Cofactors for contact activation of intrinsic pathway	Mediate inflammatory response; enhance fibrinolysis
Tissue factor (tissue thromboplastin or factor III)	Most cells except platelets	Damage to tissue	Starts extrinsic pathway	N/A
Prothrombin and thrombin (factor II)	Liver and plasma	Platelet lipids, Ca ²⁺ and factor V	Fibrin production	N/A
Fibrinogen and fibrin (factor I)	Liver and plasma	Thrombin	Form insoluble fibers that stabilize platelet plug	N/A
Fibrin-stabilizing factor (XIII)	Liver, megakaryocytes	Platelets	Cross-links fibrin polymers to make stable mesh	N/A
Ca ²⁺ (factor IV)	Plasma ions	N/A	Required for several steps of coagulation cascade	Never a limiting factor
Vitamin K	Diet	N/A	Needed for synthesis of factors II, VII, IX, X	N/A

Faktor	Název faktoru	Biologický poločas (h)
I	fibrinogen	120-144
II	protrombin	48
III	tromboplastin, trombokináza	velmi krátký
IV	ionty vápníku	
V	proakcelerin	12-15
VII	(AHF) prokonvertin, stabilní f.	2-5
VIII	antihemofilní faktor A, a. globulin	5-12
IX	Christmas faktor, antihem. f. B	12-30
X	Stuart-Prower faktor	32
XI	antihemofilický f. C, PTA	méně než 12
XII	Hageman faktor	méně než 12
XIII	f. stabilizující fibrin	48-72
HMW-K	Fitzgerald f. (vysokomolekulární kininogen)	
Pre-K	prekallikrein	
Ka	kallikrein	
PL	destičkové fosfolipidy	

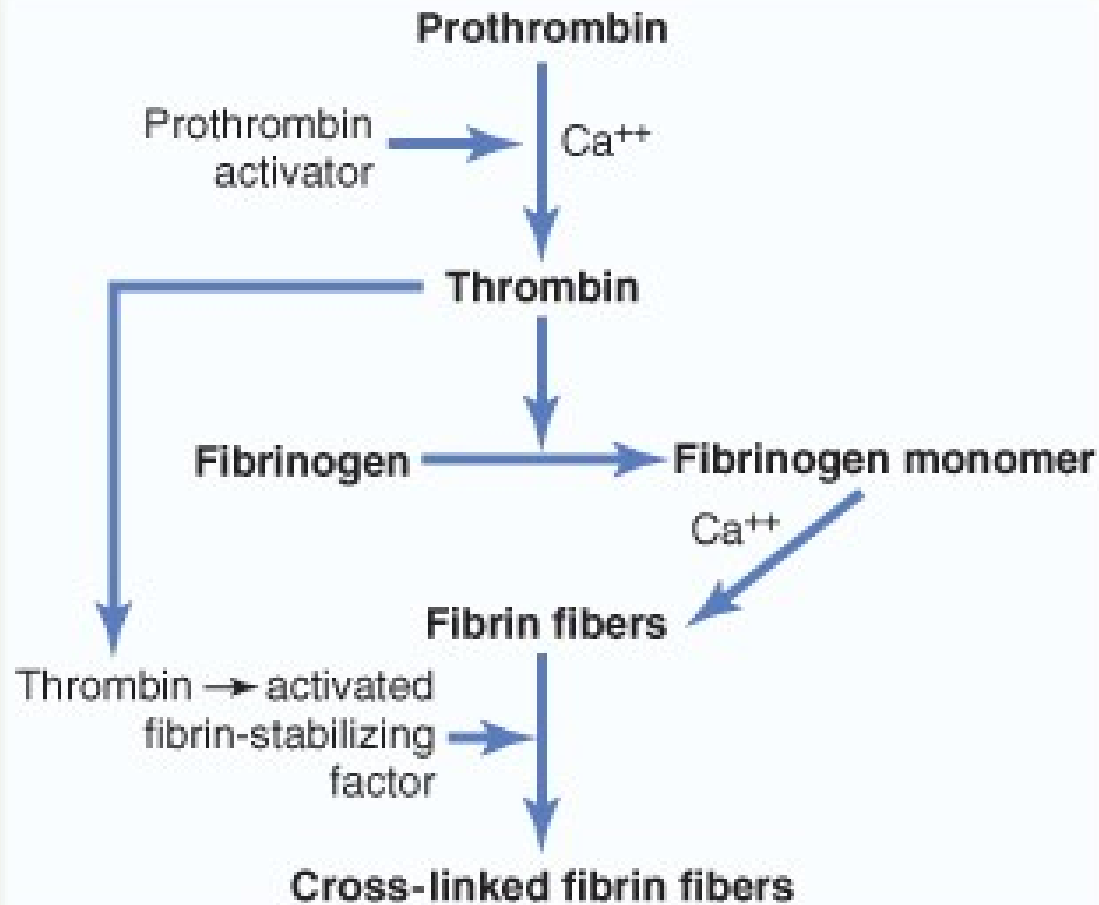
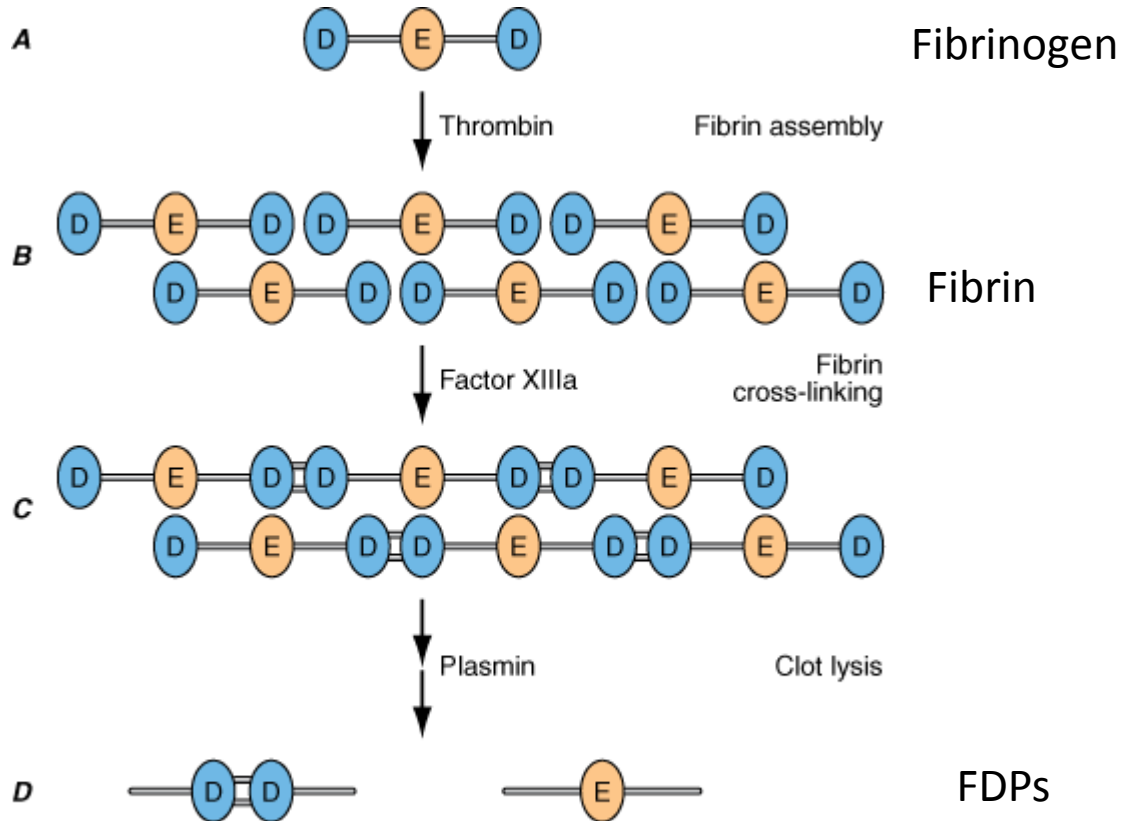


Figure 36-2 Schema for conversion of prothrombin to thrombin and polymerization of fibrinogen to form fibrin fibers.

FIBRIN FORMATION AND DEGRADATION



FDPs, fibrin degradation products

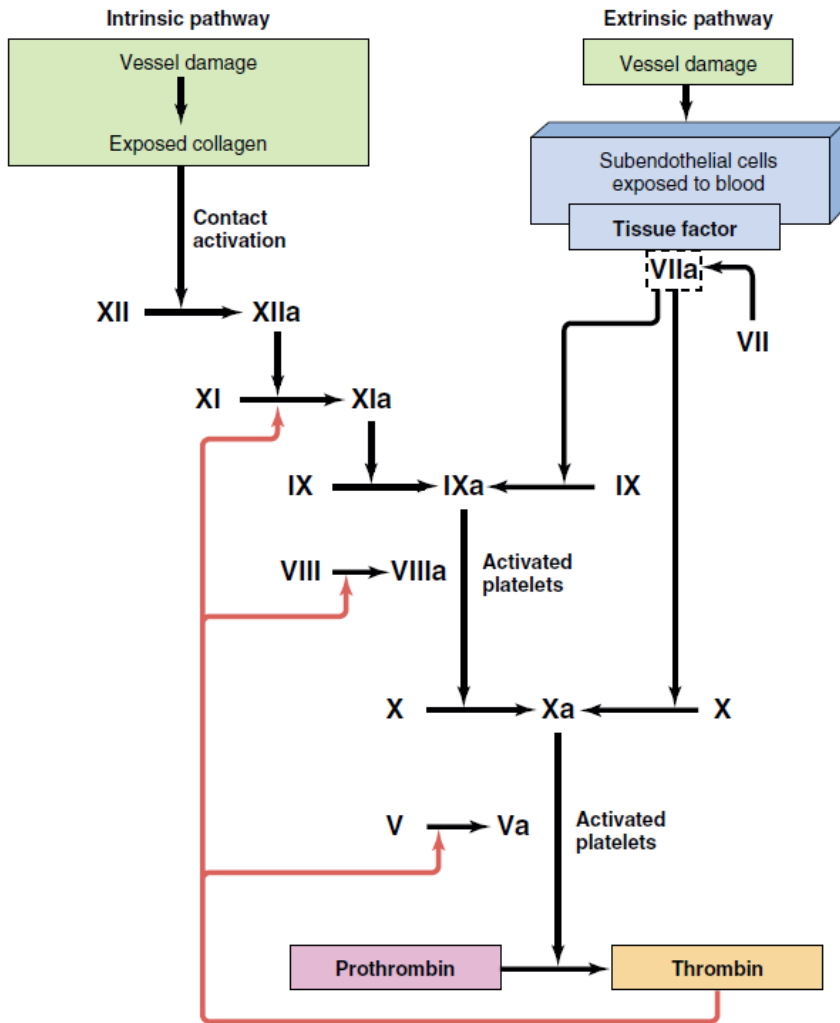


FIGURE 14-73

Two clotting pathways—called intrinsic and extrinsic—merge and can lead to the generation of thrombin. Under most physiological conditions, however, factor XII and the contact activation step that begin the intrinsic pathway probably play little, if any, roles in clotting. Rather, clotting is initiated solely by the extrinsic pathway, as described in the text. You might think that factors IX and X were accidentally transposed in the intrinsic pathway, but such is not the case; the order of activation really is XI, IX, and X. For the sake of clarity, the roles of calcium in clotting are not shown.

Faktor	Název	Alternativní název
I	fibrinogen	
II*	protrombin	
III	tkáňový tromboplastin	tkáňový faktor
IV	Ca ²⁺	
V	proakcelerín	labilní faktor akcelerační globulin
VI	Va	
VII*	prokonvertin	
VIII	antihemofilický faktor (AHF)	antihemofilický faktor A antihemofilický globulin (AHG)
IX*	Christmasův faktor	plazmatická tromboplastická komponenta (PTC) antihemofilický faktor B
X*	Stuartův-Prowerův faktor	
XI	plazmatický předchůdce tromboplastinu	plasma tromboplastin antecedent (PTA) antihemofilický faktor C
XII	Hagemanův faktor	glass faktor
XIII	fibrin stabilizující faktor	Lakiho-Lorandův faktor
HMWK	vysokomolekulární kininogen	Fitzgeraldův faktor
PKK	prekalikrein	Fletcherův faktor
	kalikrein	
	destičkové fosfolipidy	

The three pathways that make up the classical blood coagulation pathway

Intrinsic

surface contact

XII → XII_a

XI → XI_a

IX → IX_a

(VIII, PL, Ca⁺⁺)

X → X_a

(V, PL, Ca⁺⁺)

prothrombin → thrombin (serine protease)

fibrinogen → fibrin → XIII_a → stable fibrin clot

XII – Hageman factor, a serine protease
 XI – Plasma thromboplastin, antecedent serine protease
 IX – Christmas factor, serine protease
 VII – Stable factor, serine protease
 XIII – Fibrin stabilising factor, a transglutaminase
 PL – Platelet membrane phospholipid
 Ca⁺⁺ – Calcium ions
 TF – Tissue Factor (_a = active form)

Extrinsic

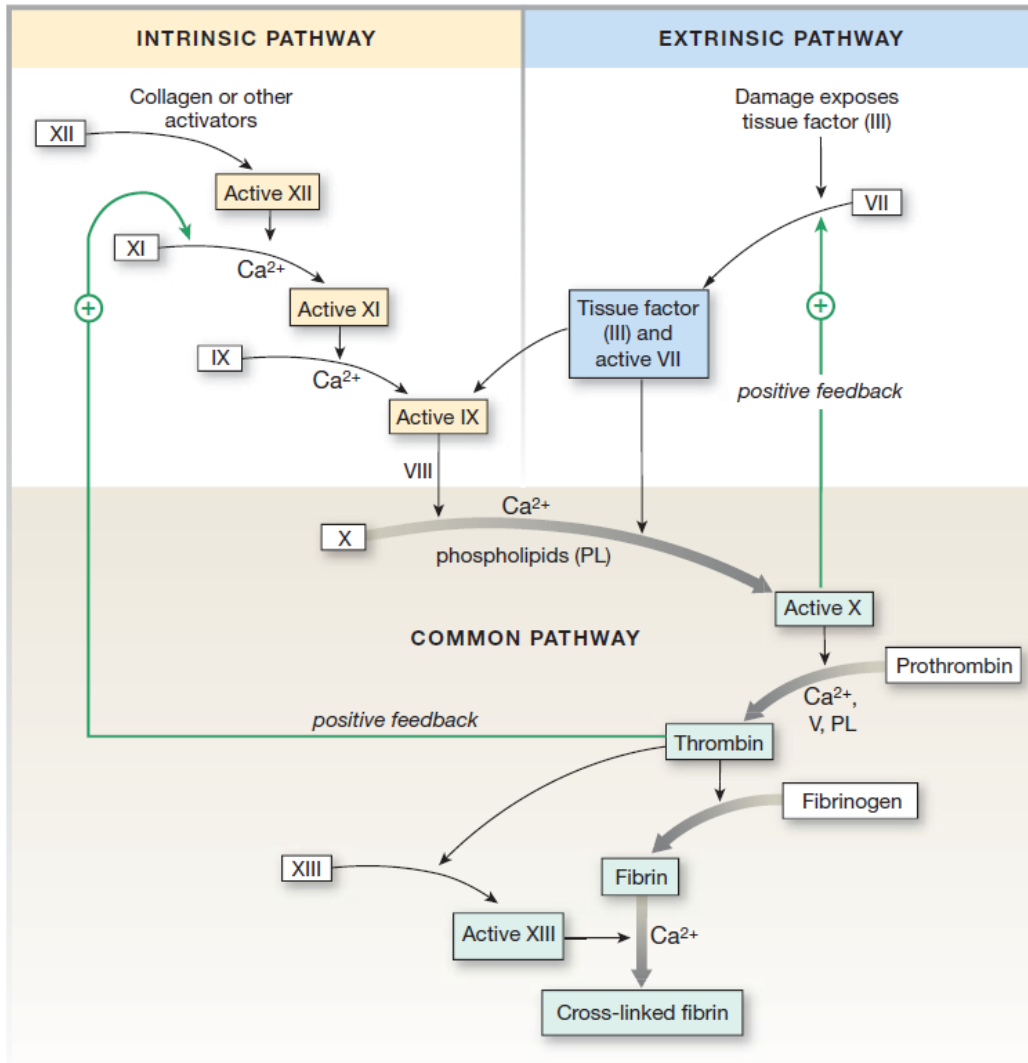
TF:VII_a

tissue damage

Common

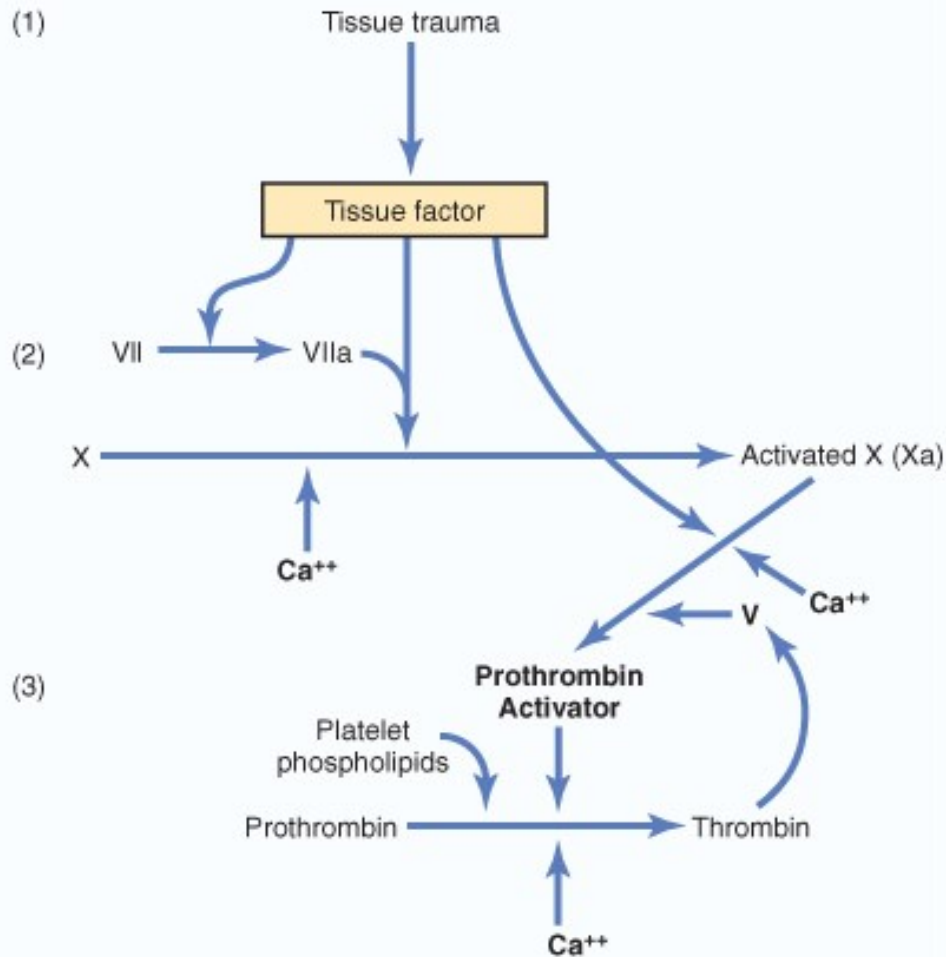
THE COAGULATION CASCADE

Inactive plasma proteins (white boxes) are converted into active enzymes in each step of the pathway.



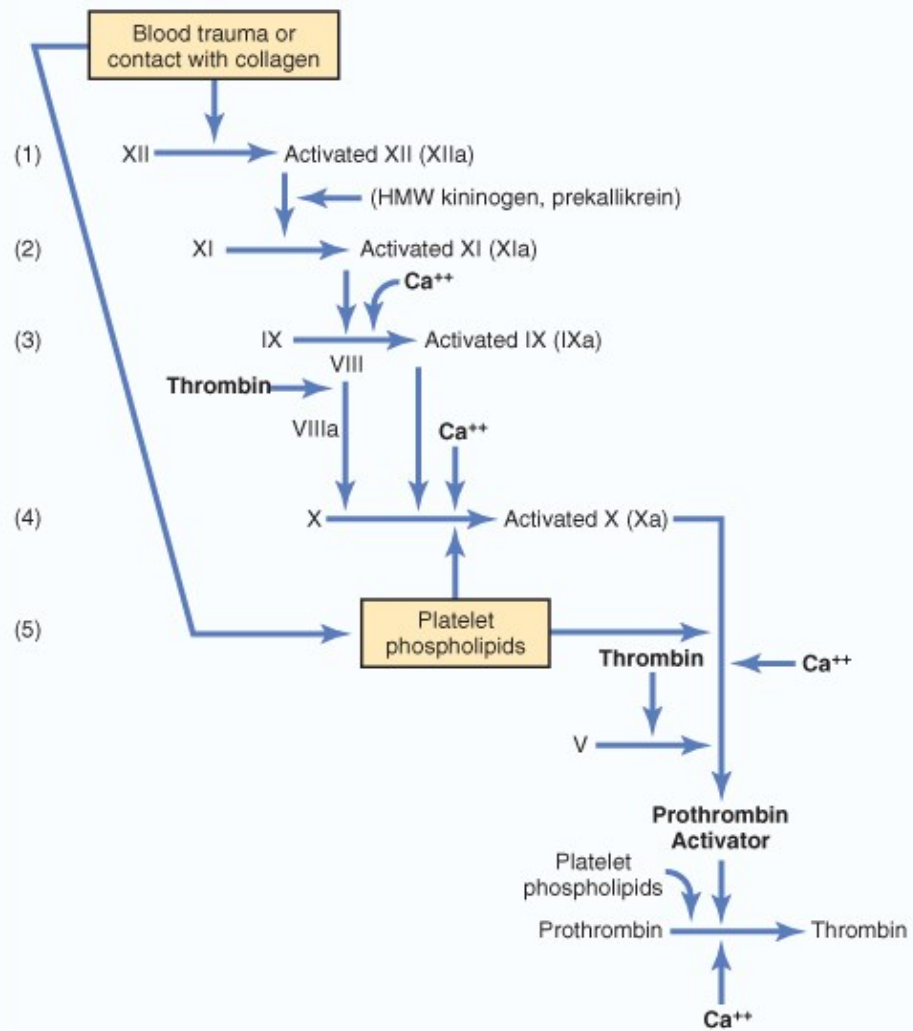
Faktor	Název Alternativní název
I	fibrinogen
II*	protrombin
III	tkáňový tromboplastin tkáňový faktor
IV	Ca ²⁺
V	proakcelerin labilní faktor akcelerační globulin
VI	Va
VII*	prokonvertin
VIII	antihemofilický faktor (AHF) antihemofilický faktor A antihemofilický globulin (AHG)
IX*	Christmasův faktor plazmatická tromboplastická komponenta (PTC) antihemofilický faktor B
X*	Stuartův-Prowerův faktor
XI	plazmatický předchůdce tromboplastinu plasma tromboplastin antecendent (PTA) antihemofilický faktor C
XII	Hagemanův faktor glass faktor
XIII	fibrin stabilizující faktor Lakiho-Lorandův faktor
HMWK	vysokomolekulární kininogen Fitzgeraldův faktor
PKK	prekalikrein Fletcherův faktor
	kalikrein
	destičkové fosfolipidy

Silverthorn, D. U.
Human Physiology –
an Integrated
Approach. 6th. edition.
Pearson Education,
Inc. 2012.



Faktor	Název Alternativní název
I	fibrinogen
II*	protrombin
III	tkáňový tromboplastin tkáňový faktor
IV	Ca ²⁺
V	proakcelerin labilní faktor akcelerační globulin
VI	Va
VII*	prokonvertin
VIII	antihemofilický faktor (AHF) antihemofilický faktor A antihemofilický globulin (AHG)
IX*	Christmasův faktor plazmatická tromboplastická komponenta (PTC) antihemofilický faktor B
X*	Stuartův-Prowerův faktor
XI	plazmatický předchůdce tromboplastinu plasma tromboplastin antecendent (PTA) antihemofilický faktor C
XII	Hagemanův faktor glass faktor
XIII	fibrin stabilizující faktor Lakiho-Lorandův faktor
HMWK	vysokomolekulární kininogen Fitzgeraldův faktor
PKK	prekalikrein Fletcherův faktor
	kalikrein
	destičkové fosfolipidy

Figure 36-3 Extrinsic pathway for initiating blood clotting.

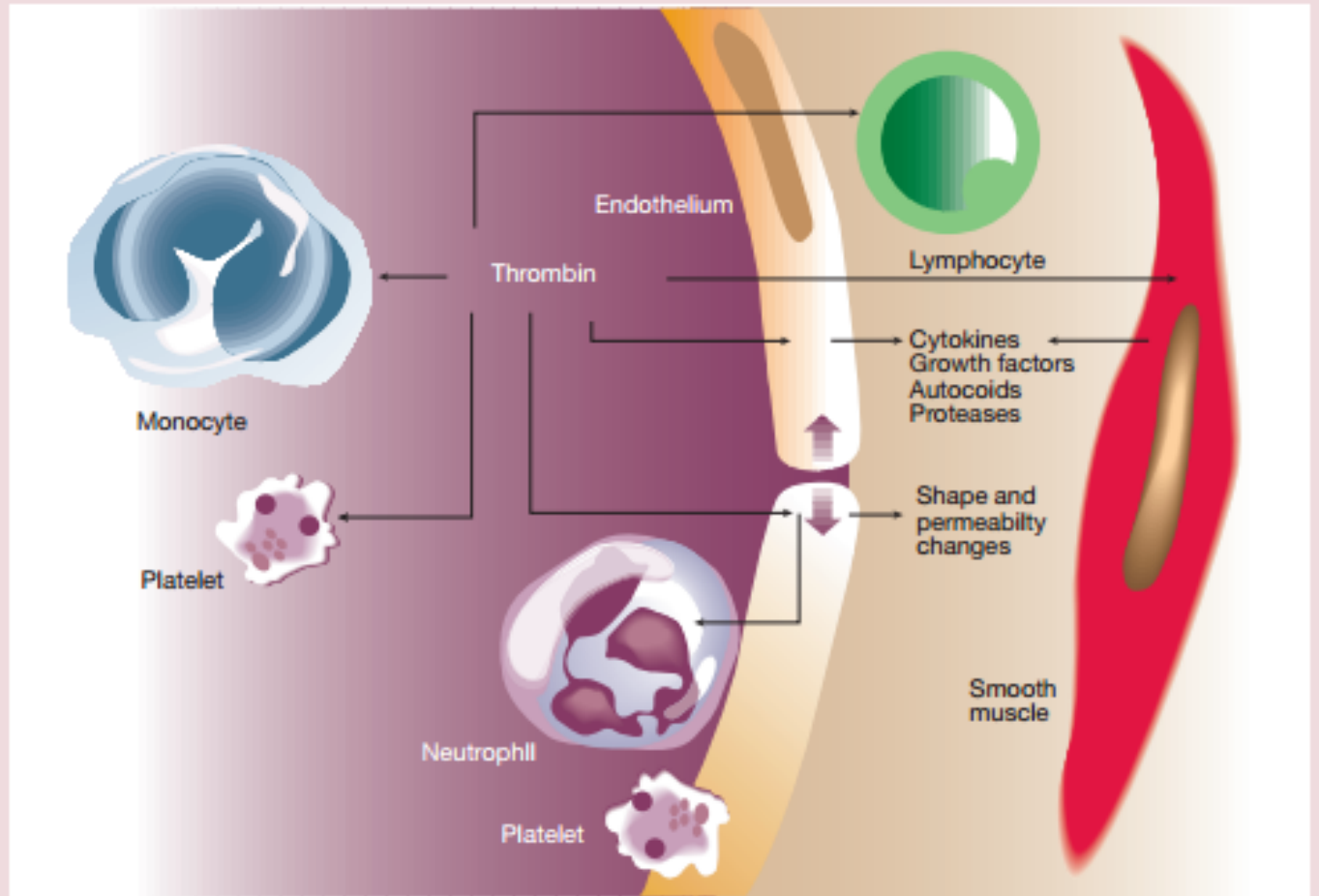


© Elsevier. Guyton & Hall: Textbook of Medical Physiology 11e - www.studentconsult.com

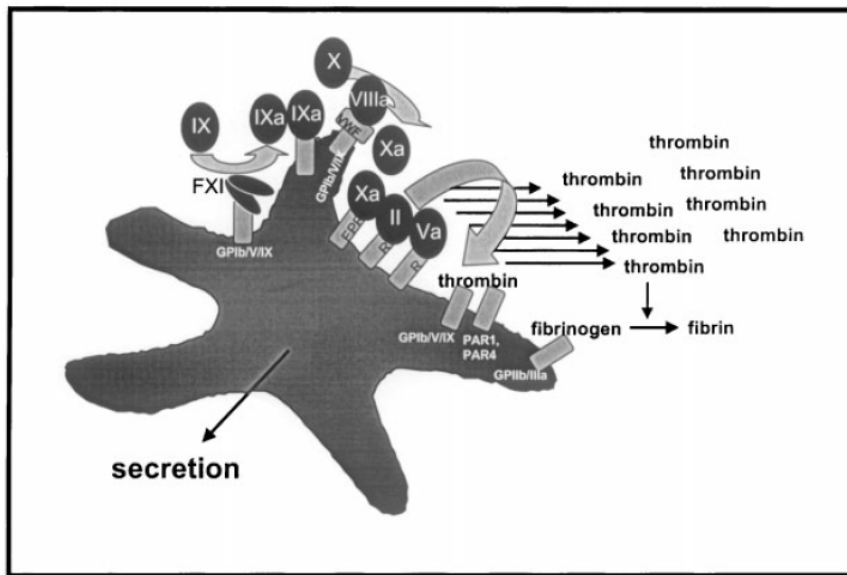
Figure 36-4 Intrinsic pathway for initiating blood clotting.

Faktor	Název Alternativní název
I	fibrinogen
II*	protrombin
III	tkáňový tromboplastin tkáňový faktor
IV	Ca ²⁺
V	proakcelerin labilní faktor akcelerační globulin
VI	Va
VII*	prokonvertin
VIII	antihemofilický faktor (AHF) antihemofilický faktor A antihemofilický globulin (AHG)
IX*	Christmasův faktor plazmatická tromboplastická komponenta (PTC) antihemofilický faktor B
X*	Stuartův-Prowerův faktor
XI	plazmatický předchůdce tromboplastinu plasma tromboplastin antecedent (PTA) antihemofilický faktor C
XII	Hagemanův faktor glass faktor
XIII	fibrin stabilizující faktor Lakiho-Lorandův faktor
HMWK	vysokomolekulární kininogen Fitzgeraldův faktor
PKK	prekalikrein Fletcherův faktor
	kalikrein
	destičkové fosfolipidy

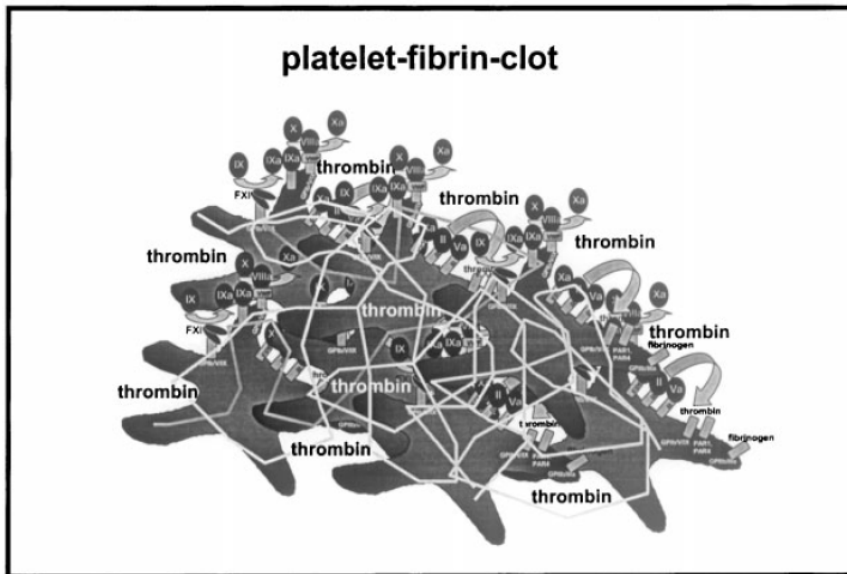
Figure 1 The actions of thrombin on blood cells and blood vessels. Thrombin is a multifunctional serine protease generated at sites of vascular injury. It is arguably the most effective agonist for platelet activation. Thrombin also elicits a host of responses in the vascular endothelium, including shape and permeability changes, mobilization of adhesive molecules to the endothelial surface and stimulation of autocooid (small molecule mediators such as prostaglandins and platelet-activating factor) and cytokine production. Thrombin is chemotactic for monocytes and mitogenic for lymphocytes and mesenchymal cells.



Coughlin SR: Thrombin signalling and protease-activated receptors. *Nature* 2000, 407(6801):258-264.



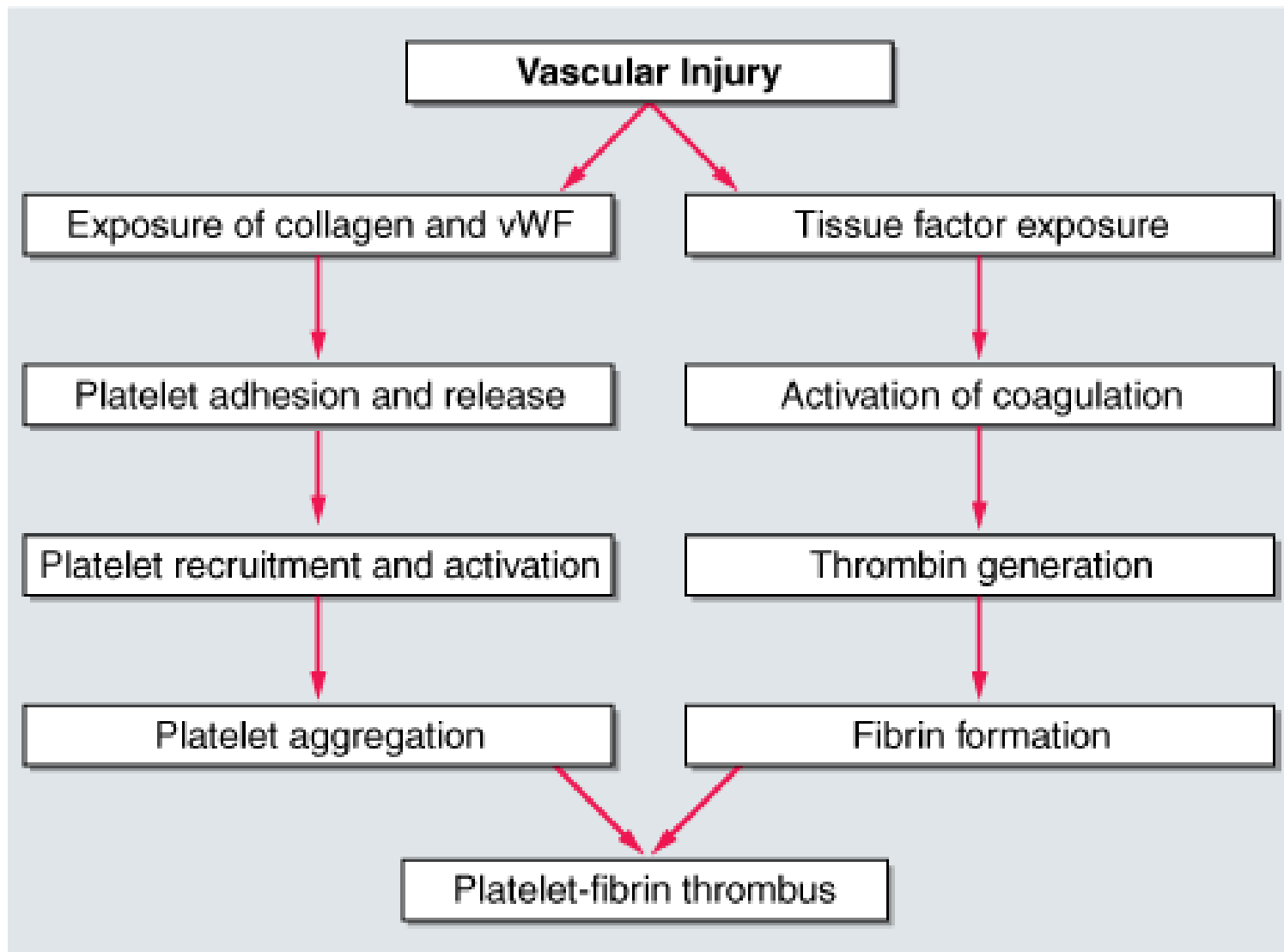
D



E

Figure 4 Model of receptor-mediated thrombin generation. (A) Small amounts of thrombin formed on the surface of a tissue factor (TF) presenting cell (fibroblast or activated monocyte or activated endothelial cell, respectively). These amounts of thrombin are not able to produce a stable fibrin clot, but are enough to activate platelets. (B) Activated platelets can then bind coagulation factors and cofactors via Ca^{2+} and by specific receptors. (C) Platelet-bound cofactors FV and FVIII are protected against cleavage by activated protein C. (D) On the surface of the platelet FXIa binds to its receptor GPIb and activates FIX. In contrast to FXa that is readily inhibited by tissue factor pathway inhibitor (TFPI) as soon as it enters the plasma, FIXa, built on TF/FVIIa presenting cells can in addition diffuse to the activated platelets. On the platelet surface the Xase-complex and the prothrombinase-complex have optimal conditions. (E) The concerted actions of coagulation factors on the platelet surface lead to a burst of thrombin formation, so that a stable fibrin clot can be formed. aPC, activated protein C; R, receptor; EPR1, effector cell protease receptor 1, PAR, protease activated receptor.

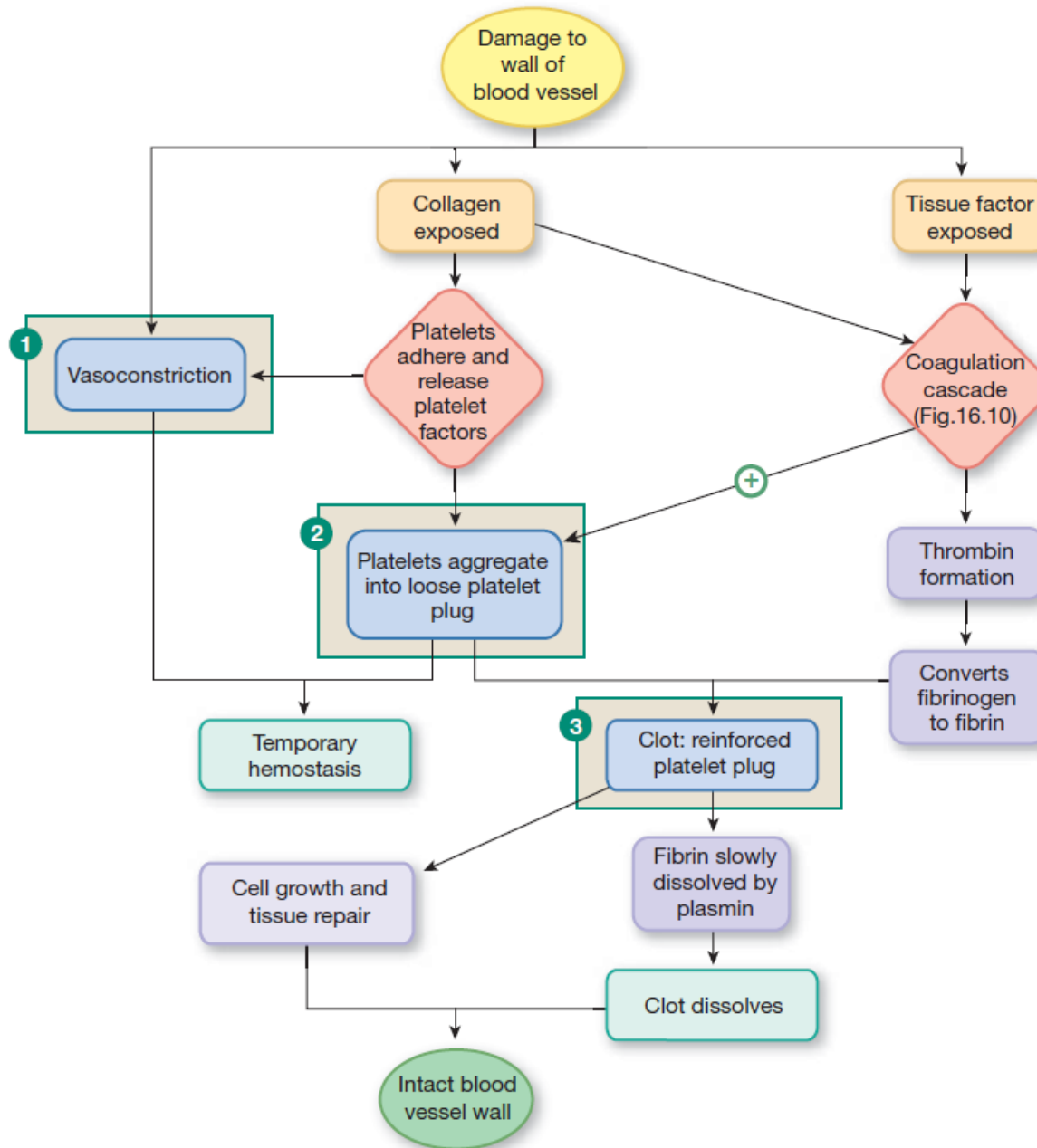
Jurk K, Kehrel BE: **Platelets: Physiology and biochemistry. Seminars in Thrombosis and Hemostasis 2005, 31(4):381-392.**



Source: Fauci AS, Kasper DL, Braunwald E, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J: *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 17th Edition: <http://www.accessmedicine.com>

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

SUMMARY

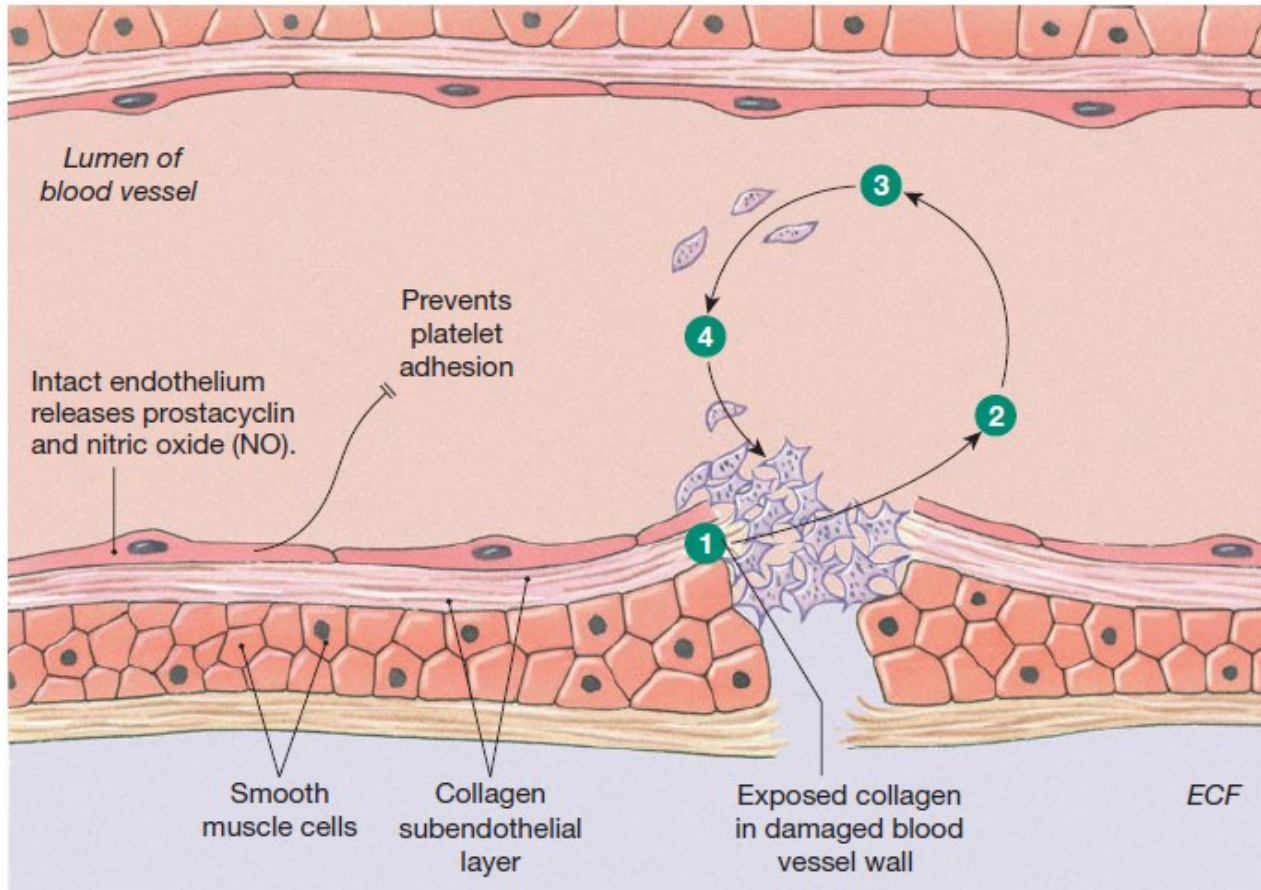


Silverthorn, D. U. Human Physiology – an Integrated Approach. 6th. edition. Pearson Education, Inc. 2012.

PLATELET PLUG FORMATION

SUMMARY

Platelets will not adhere to intact endothelium. Damage triggers platelet plug formation where collagen has been exposed.



- 1 Exposed collagen binds and activates platelets.
- 2 Release of platelet factors
- 3 Factors attract more platelets.
- 4 Platelets aggregate into platelet plug.

TABLE 14–16 Anticlotting Roles of Endothelial Cells

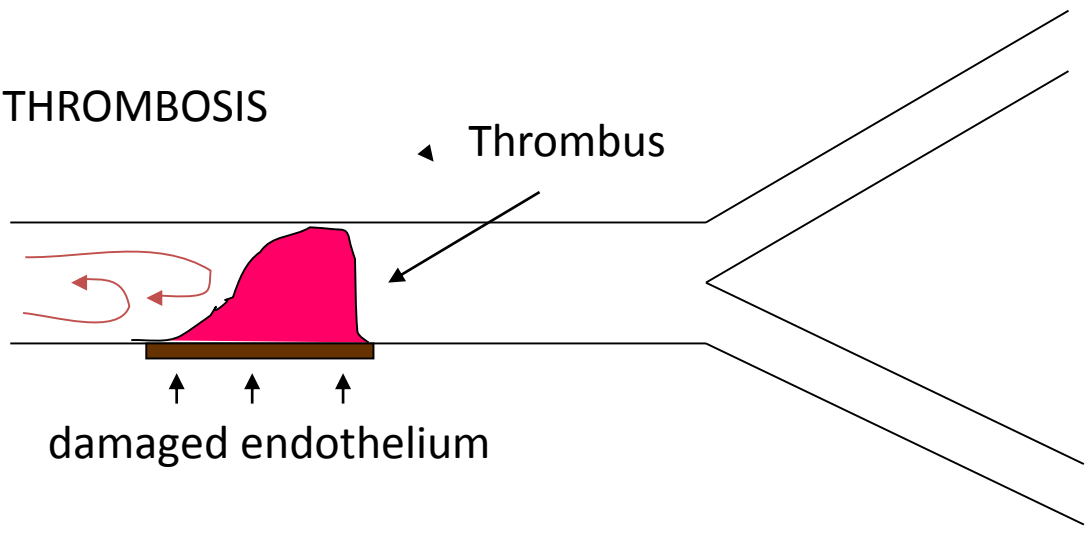
Action	Result
Normally provide an intact barrier between the blood and subendothelial connective tissue	Platelet aggregation and the formation of tissue factor–factor VIIa complexes are not triggered
Synthesize and release PGI ₂ and nitric oxide	These inhibit platelet activation and aggregation
Secrete tissue factor pathway inhibitor	Inhibits the ability of tissue factor–factor VIIa complexes to generate factor Xa
Bind thrombin (via thrombomodulin), which then activates protein C	Active protein C inactivates clotting factors VIIIa and Va
Display heparin molecules on the surfaces of their plasma membranes	Heparin binds antithrombin III, and this molecule then inactivates thrombin and several other clotting factors
Secrete tissue plasminogen activator	Tissue plasminogen activator catalyzes the formation of plasmin, which dissolves clots

INTRAVASKULÁRNÍ KOAGULACE

Poškození endotelu způsobené:

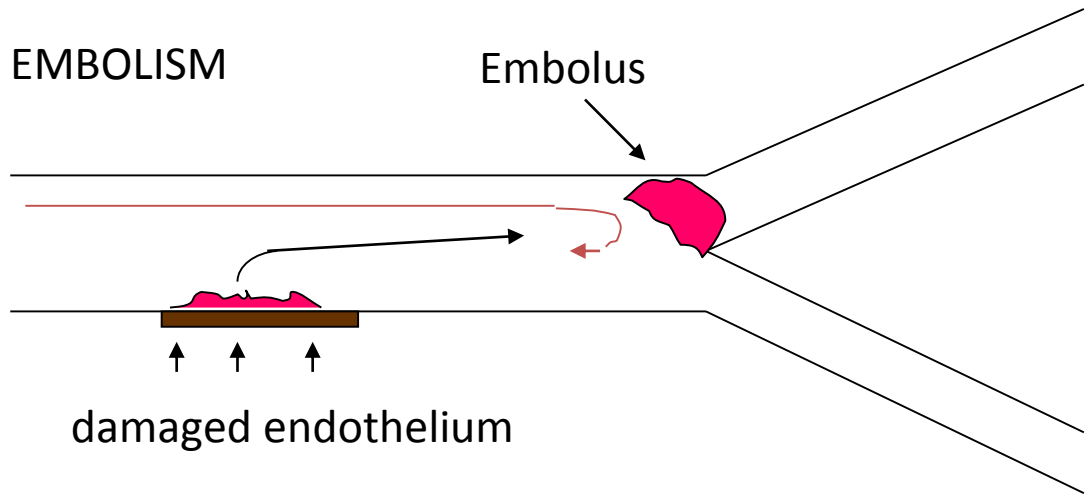
- 1) Aterosklerosou (infarkt myokardu, cévní mozková příhoda)
- 2) Zánět (žilní trombosa, plicní embolie)

THROMBOSIS

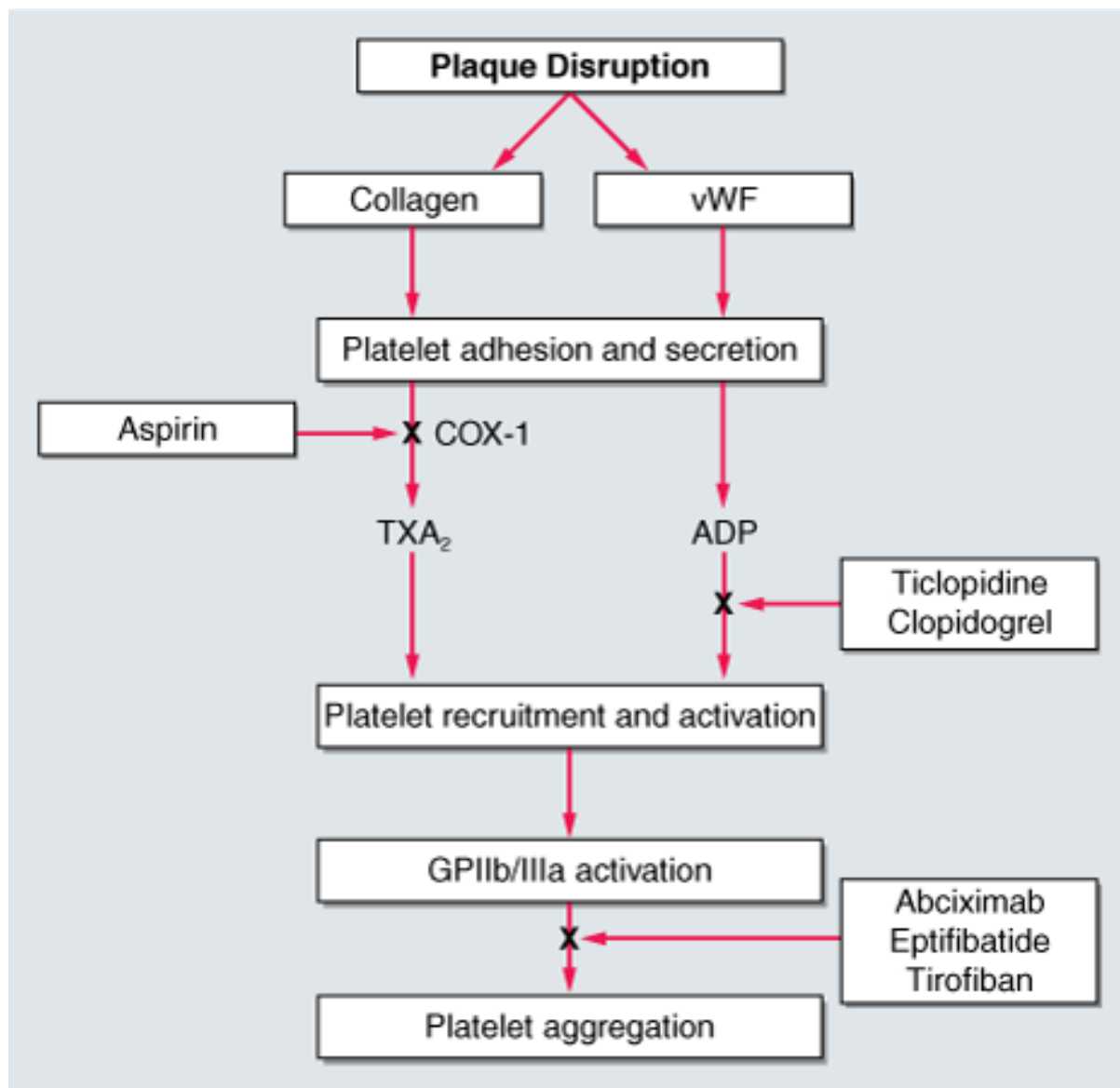


Example:
MI
Stroke

EMBOLISM



Example:
Pulmonary embolism



Source: Fauci AS, Kasper DL, Braunwald E, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J: *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 17th Edition: <http://www.accessmedicine.com>

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

ŘÍZENÍ HEMOKOAGULACE

Hemokoagulace vyvažována protisrážlivými mechanismy:

Nehumorální řízení:

Souvislý neporušený endotel.

Proud krve: omezení zvětšování koagula, zředění a odplavení faktorů srážení krve.

Vzájemné negativní působení tromboxanu A_2 a prostacyklinu.

Humorální řízení:

Fibrin: silně váže trombin – „antitrombin“

Antitrombin III: cirkulující inhibitor proteáz (aktivních forem faktorů IX, X, XI, XII), vazba na proteázy koagulačního systému usnadněna heparinem pocházejícím ze žírných buněk (kofaktor heparinu)

Trombomodulin: trombin vážící protein, produkován endoteliálními buňkami

Trombin + Trombomodulin = aktivátor proteinu C

Protein C: inaktivace faktorů V a VIII

inhibice inhibitoru aktivátoru tkáňového plasminogenu

(=více plasminu – rozklad fibrinu)

Plasmin (fibrinolysin): aktivní složka fibrinolytického systému. Prekurzor: plasminogen, katalýza trombinem a **tkáňovým aktivátorem plasminu (TPA)** – využití v terapii infarktu myokardu!!! Streptokináza.

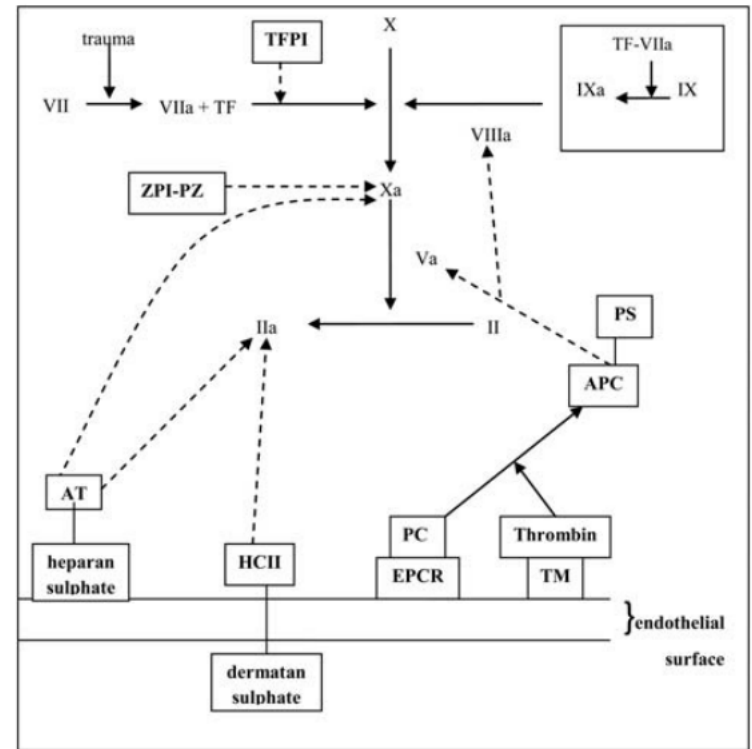
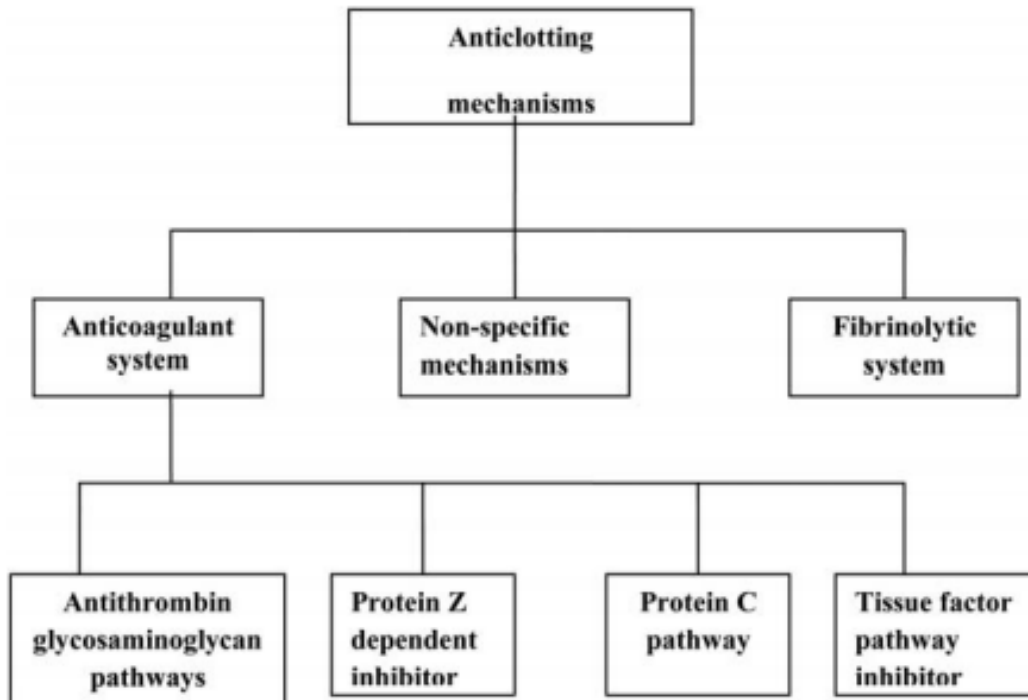


Fig 2 The anticoagulant system. AT, antithrombin; HCII, heparin cofactor II; TFPI, tissue factor pathway inhibitor; ZPI, protein Z-dependent protease inhibitor; PZ, protein Z; PC, protein C; APC, activated protein C; PS, protein S; EPCR, endothelial protein C receptor; TM, thrombomodulin. Solid arrows indicate activation and dashed arrows indicate inhibition.

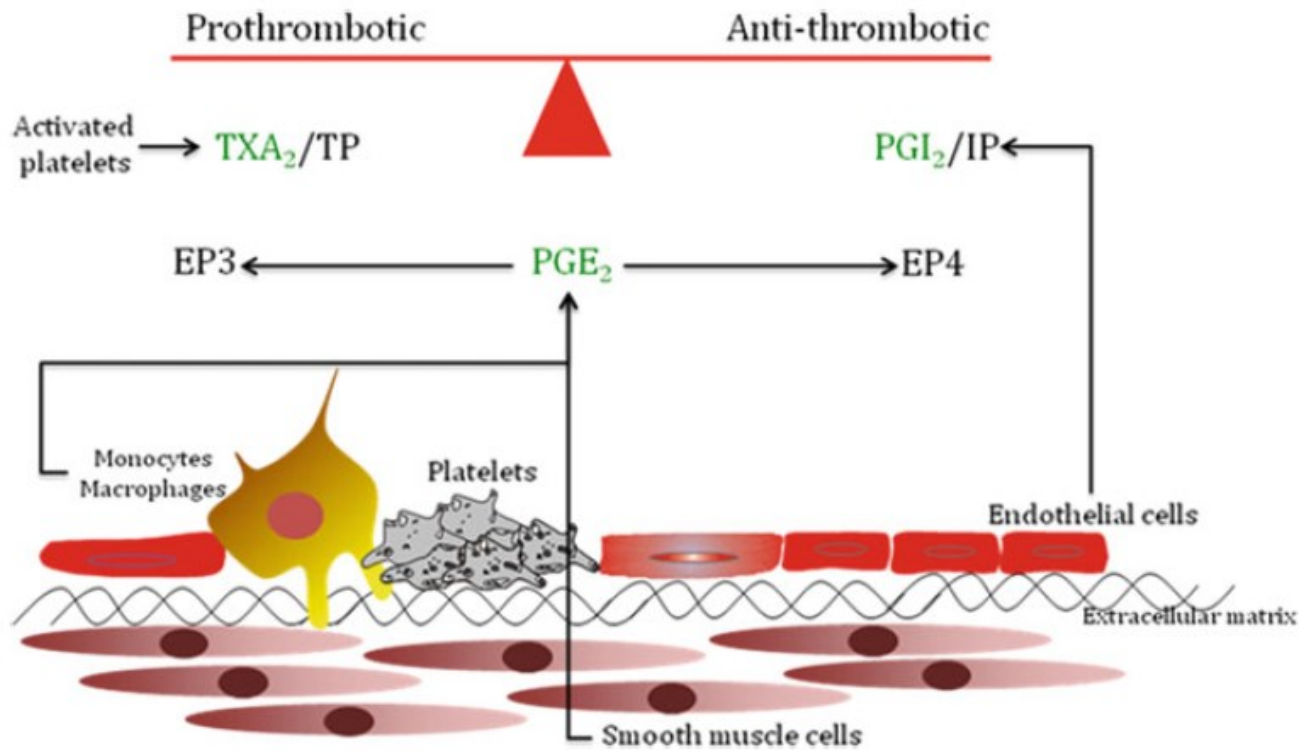
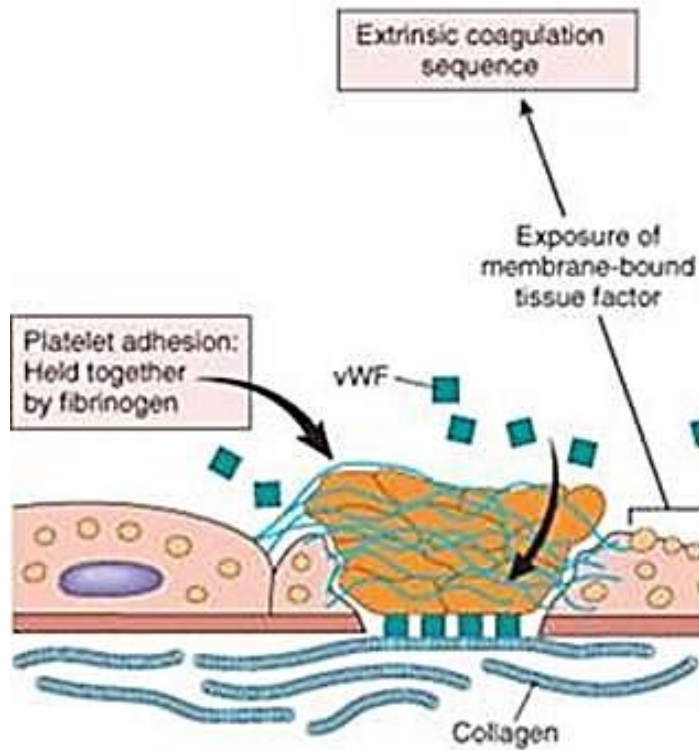


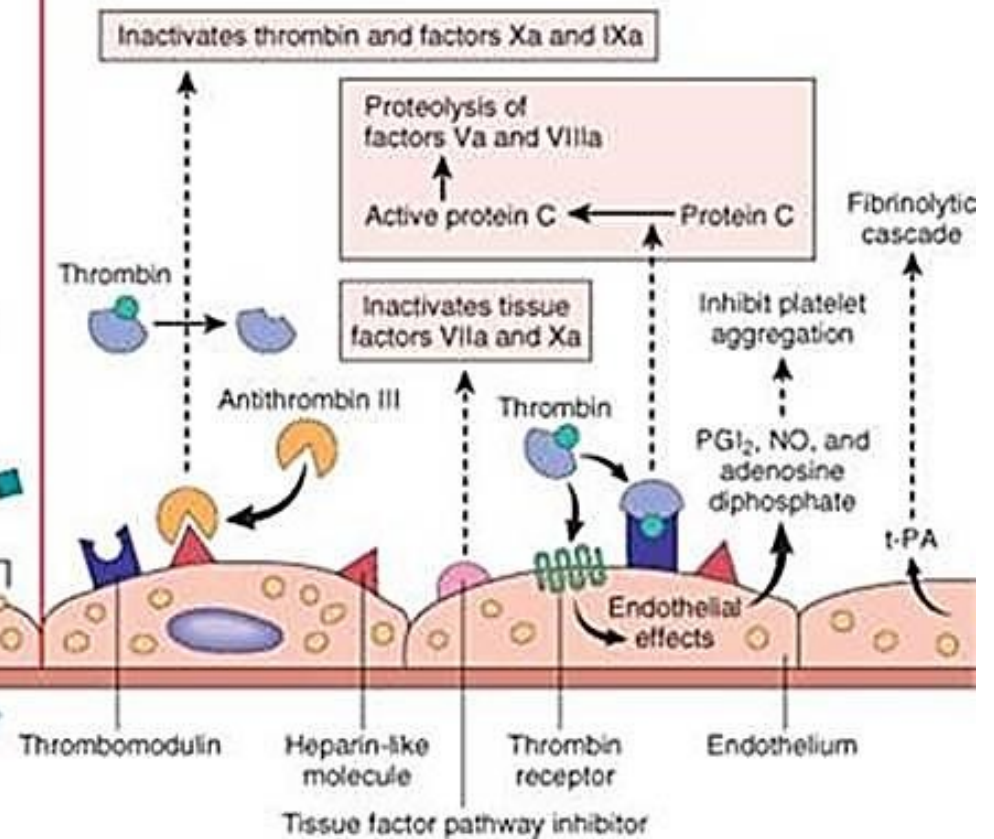
Fig. 4 The balance between thrombotic and antithrombotic effects of prostanoids. In response to vascular injury, PGI₂ produced by endothelial cells opposes the enhanced prothrombotic effect of TXA₂ produced by platelets. Smooth muscle cells, monocytes, and macrophages (accumulate in atherosclerotic plaques) release prostanoids such as PGE₂ during inflammation. PGE₂ shows a biphasic, dose-dependent effect on platelet aggregation

Kauskot A, Hoylaerts MF: Platelet receptors. *Handbook of experimental pharmacology* 2012(210):23-57.

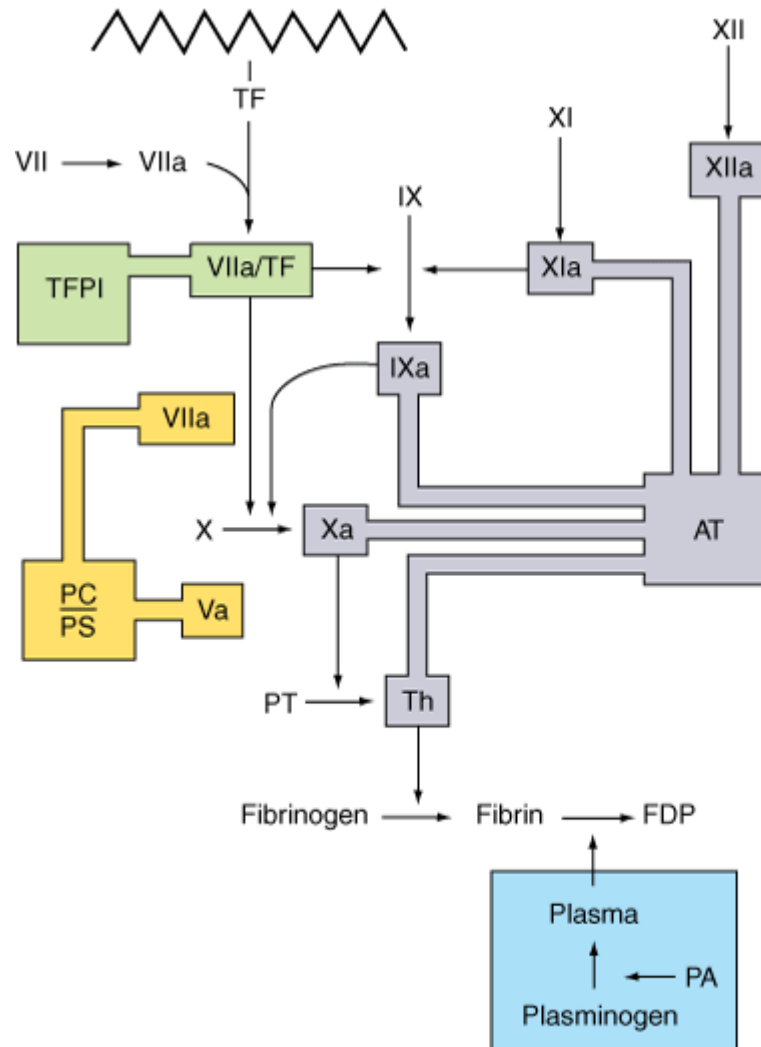
FAVOR THROMBOSIS



INHIBIT THROMBOSIS



PROTIZRÁŽECÍ MECHANIZMY



PC, PS - protein C, S; AT – antithrombin;
PA - plasminogen activator

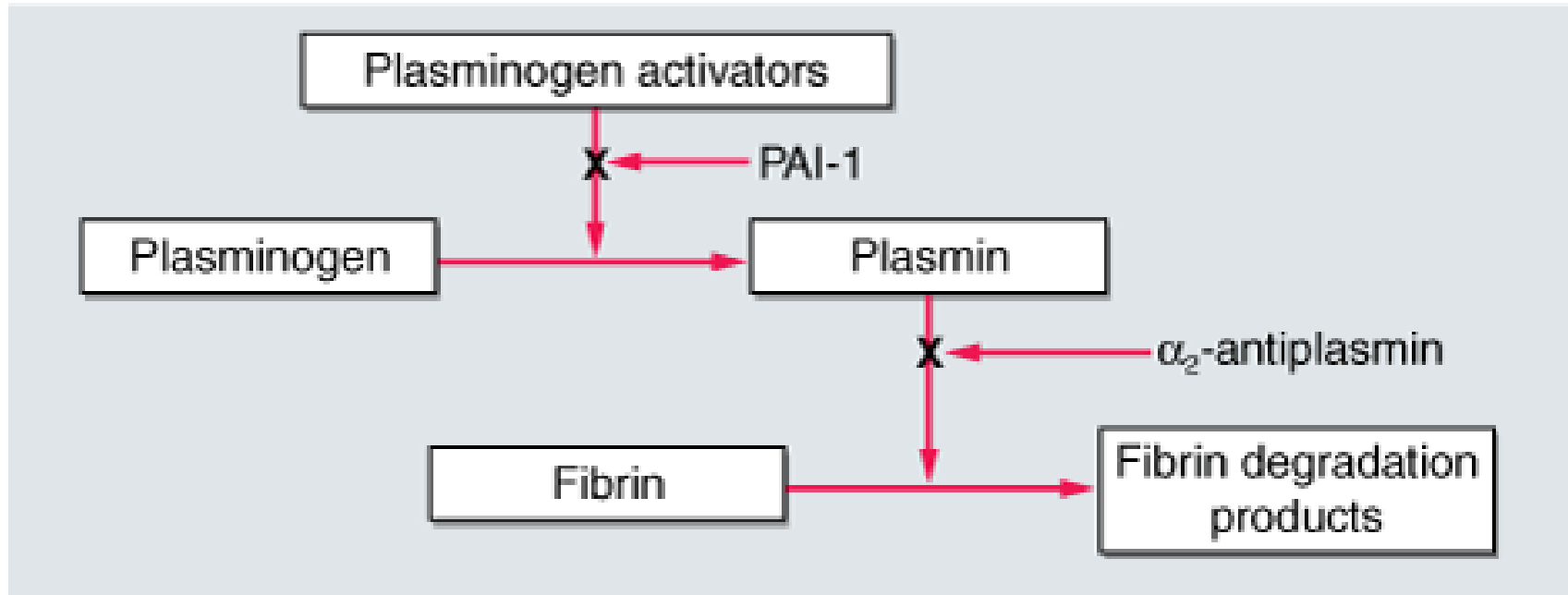
FIBRINOLÝZA

Neúčinný plazminogen

Účinný plazmin (fibrinolysin)

Aktivátory plazminogenu

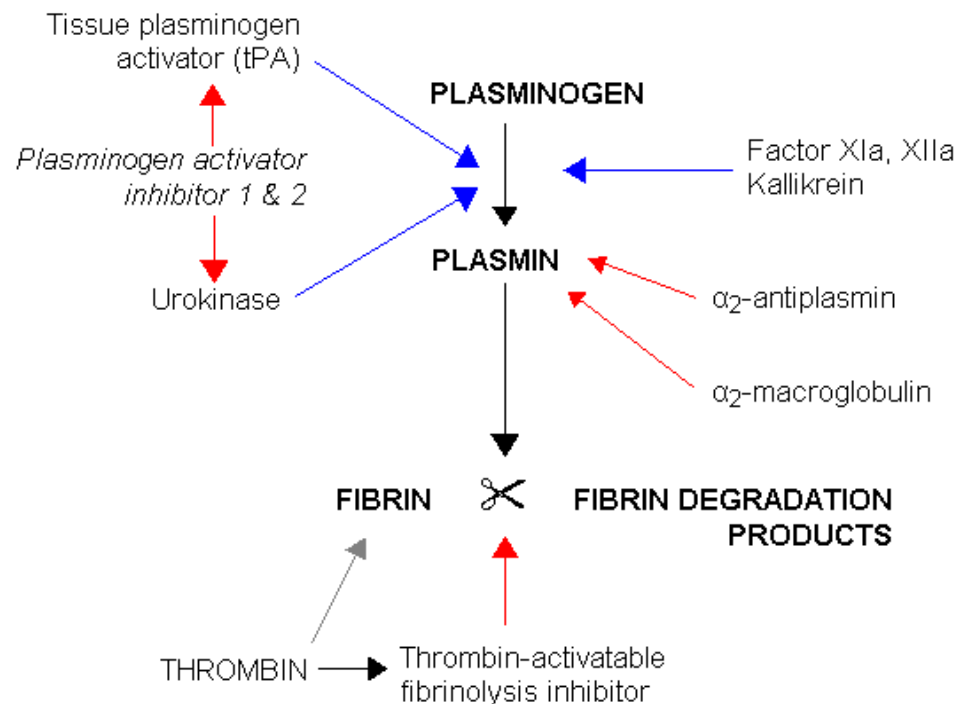
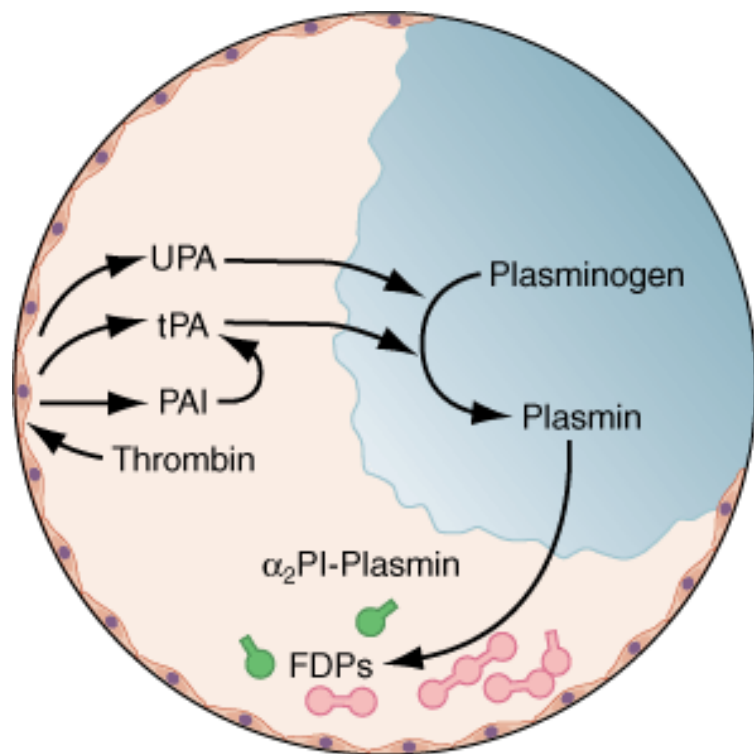
Inhibitory plazminogenu



Source: Fauci AS, Kasper DL, Braunwald E, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J: *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 17th Edition: <http://www.accessmedicine.com>

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

TROMBOLÝZA



Source: Fauci AS, Kasper DL, Braunwald E, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J: *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 17th Edition: <http://www.accessmedicine.com>

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

UPA, urokinase plasmin activator tPA, tissue plasmin activator

PAI, plasmin activator inhibitor α_2 PI-Plasmin, complex

ANTIKOAGULACE

Defibrinace: odstranění fibrinu (preparáty z hadích jedů) – *in vitro*

Dekalcifikace: vyvázání nebo odstranění vápenatých iontů (citrát sodný, šťavelan draselný nebo amonný) – *in vitro*

Heparin: přirozené antikoagulans, žírné buňky, účinné pouze za přítomnosti antitrombinu III, také *in vivo*

Kumarinové deriváty (dikumarol, warfarin): inhibice účinků vitamínu K v játrech – poruchy faktorů II, VII, IX, X, proteinu C, proteinu S (usnadňuje aktivaci Va a VIIIa pomocí proteinu C)

Hirudin: obsolentní, slinné žlázy pijavek (*Hirudo medicinalis*)

Antikoagulancia

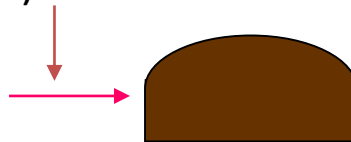
Aktivace →

Inhibice →

In vivo: Heparin → antithrombin III
test: aPTT,
antifactor Xa level

Kumarin (warfarin)

Vitamin K



Liver

→ prothrombin

test: PT

$INR = \frac{PT_{\text{patient}}}{PT_{\text{norm}}}$

warfarin → INR 2-3

In vitro: Heparin → antithrombin III

Sodium citrate → Ca^{++}

aPTT: activated partial thromboplastin time PT: prothrombin time

Antithrombotic Drugs

Antiplatelet drugs

Anticoagulants

Fibrinolytic agents

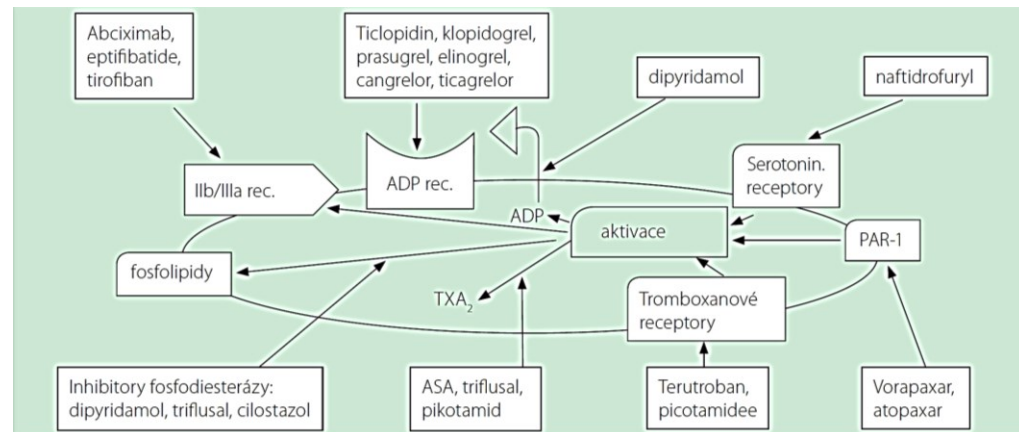
Source: Fauci AS, Kasper DL, Braunwald E, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J: *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 17th Edition: <http://www.accessmedicine.com>

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Protidestičková léčiva – krátký úvod

- Farmakologicky ovlivňujeme funkci, ne počet
- Primární a sekundární prevence atherotrombózy
 - Akutní koronární syndromy
 - Ischemické cévní mozkové příhody
 - Symptomatické uzávěry periferního arteriálního řečiště
- Antiagregancia?
- Inhibitory cyklooxygenázy/blokátory syntézy tromboxanu A_2 nebo antagonisté jeho receptorů
- Inhibitory ADP receptorů ($P2Y_{12}$)
- Antagonisté destičkových trombinových receptorů (PAR-1)
- Antagonisté povrchových destičkových glykoproteinů (GP IIb/IIIa)
- Blokáda serotoninové cesty
- Další mechanismy

- Hlavní nevýhody současné terapie
 - nedostatečná účinnost a s rizikem recidivy
 - riziko krvácivých komplikací
 - možná rezistence na léčbu
 - absence vhodného antidota



Převzato. Poul, H. Protidestičková terapie. Klinická farmakologie a farmacie, 26(2), 2012.

INHIBICE KASKÁDY KYSELINY ARACHIDONOVÉ

- Inhibice COX1 - méně specifická:
 - kyselina acetylsalicylová (ASA) – ireverzibilní acetylace COX1 - neschopnost trombocytů syntetizovat COX1 *de novo*
 - sulfinpyrazon - reverzibilní
- Selektivní inhibice TXA2-syntázy:
 - indobufen
 - pilmagrel, ridogrel, nidrogrel
- Antagonisté TXA2 receptorů na membráně trombocytu:
 - sulotroban, ditazol

OVLIVNĚNÍ HLADINY cAMP

- Zvýšení tvorby cAMP
 - epoprostenol (prostacyklin) – silně inhibuje destičkovou fosfolipázu A₂
 - Syntetická analoga eloprost, ciprosten
- Inhibice fosfodiesterázy
 - dipyridamol – silný vazodilatační efekt

SELEKTIVNÍ ANTAGONISTÉ ADP RECEPTORŮ

- Inhibice vazby ADP na specifický receptor P2Y₁₂
- Ovlivnění exprese GP IIb/IIIa receptorů

VAZODILATANCIA OVLIVŇUJÍCÍ (INHIBUJÍCÍ) FUNKCI TROMBOCYTŮ

- pentoxifylin,
- naftidrofuryl, ketanserin (antagonisté 5HT receptorů),
- nitráty, molsidomin aj.

ANTAGONISTÉ GP IIb/IIIa RECEPTORŮ

- brání vazbě bivalentních proteinů – fibrinogen, vWf k membránovým integrinovým receptorům tím, že tyto receptory obsazují.
- Chemicky velmi heterogenní skupina
 - Fragmenty monoklonálních protilátek: abciximab
 - Syntetické inhibitory (lineární a cyklické peptidy – eptifibatid s velmi krátkým účinkem)
 - Nepeptidoví antagonisté – injekční a orální inhibitory GPIIb/IIIa – „fibany“
 - Fibany pro perorální aplikaci (některé jsou "prodrugs") - xemilofiban, sibrafiban, roxifiban
 - vysoký výskyt krvácivých komplikací (popsán i vzestup mortality)

DALŠÍ LÁTKY (BLOKUJÍCÍ ADHEZI TROMBOCYTŮ)

- blokáda receptoru GP Ib - kyselina trikarboxylaurinová (ATA)
- blokáda von Willebrandova faktoru

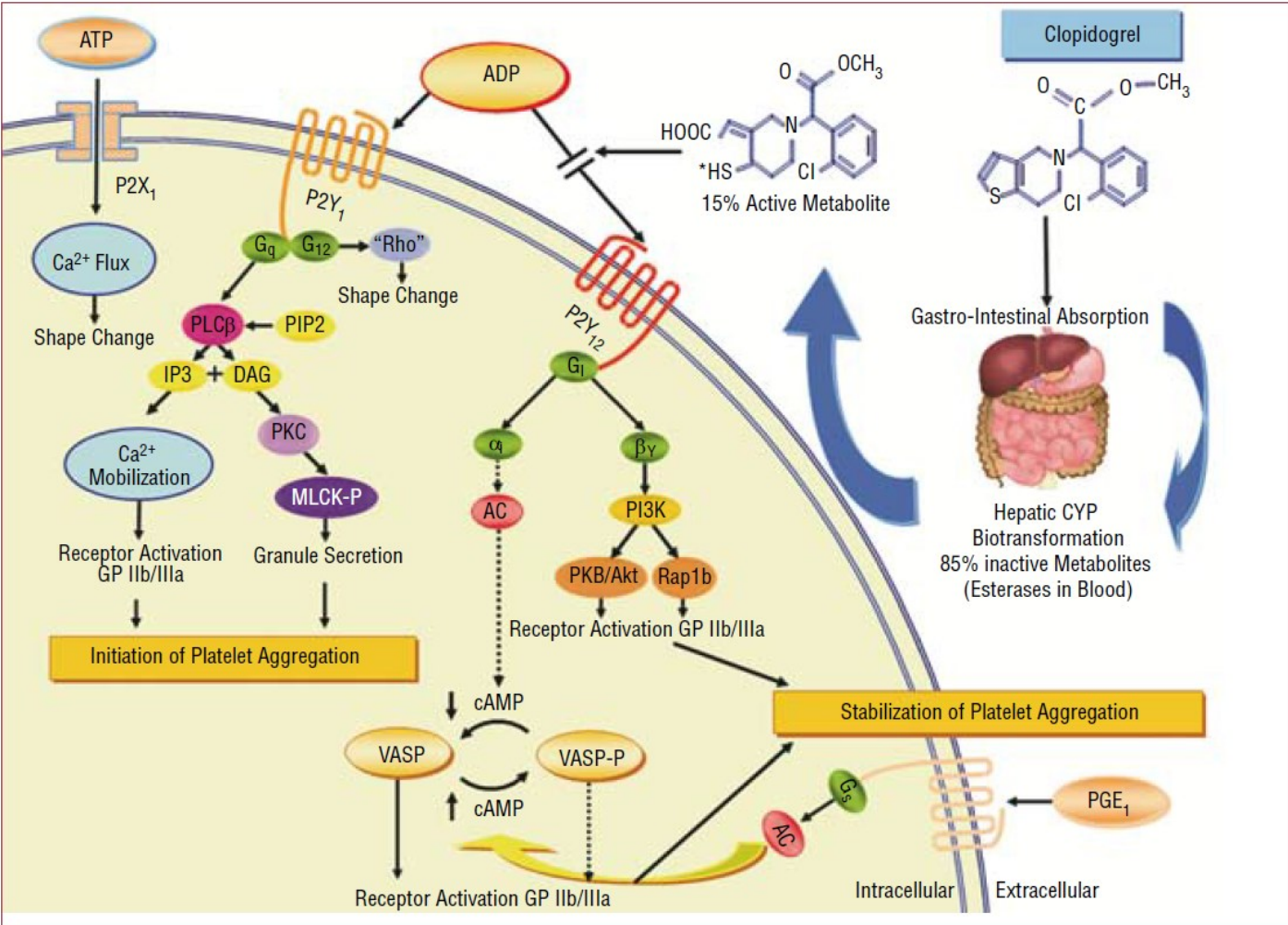


Figure 1. Purinergic receptors and mechanism of action of clopidogrel. Clopidogrel is a pro-drug of which approximately 85% is hydrolyzed by esterases in the blood to inactive metabolites and only 15% is metabolized by the cytochrome P450 (CYP) system in the liver into an active metabolite. The active metabolite irreversibly inhibits the adenosine diphosphate (ADP) P2Y₁₂ receptor. The P2X₁ receptor, which uses adenosine triphosphate (ATP) as an agonist, is involved in platelet shape change through extracellular calcium influx and helps to amplify platelet responses mediated by other agonists. Activation of the P2Y₁ receptor leads to alteration in shape and initiates a weak and transient phase of platelet aggregation. The binding of ADP to the G_q-coupled P2Y₁ receptor activates phospholipase C (PLC), which generates diacylglycerol (DAG) and inositol triphosphate (IP3) from phosphatidylinositol biphosphate (PIP2). Diacylglycerol activates protein kinase C (PKC) leading to phosphorylation of myosin light chain kinase (MLCK-P) and IP3 leads to mobilization of intracellular calcium. The P2Y₁ receptor is coupled to another G-protein, G₁₂, which activates the “Rho” protein and leads to the change in platelet shape. The binding of ADP to the G_i-coupled P2Y₁₂ receptor liberates the G_i protein subunits α_i and β_γ, resulting in stabilization of platelet aggregation. The α_i subunit inhibits adenylyl cyclase (AC) and, thus, reduces cyclic adenosine monophosphate (cAMP) levels, which diminishes cAMP-mediated phosphorylation of vasodilator-stimulated phosphoprotein (VASP-P). The status of VASP-P modulates glycoprotein (GP) IIb/IIIa receptor activation. The subunit β_γ activates the phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K), which leads to GP IIb/IIIa receptor activation through activation of a serine-threonine protein kinase B (PKB/Akt) and of Rap1b GTP binding proteins. Prostaglandin E₁ (PGE₁) activates AC, which increases cAMP levels and status of VASP-P. Solid arrows indicate activation; dotted arrows indicate inhibition. With permission from Angiolillo DJ et al.⁶

Angiolillo DJ, Ferreiro JL: **Platelet Adenosine Diphosphate P2Y(12) Receptor Antagonism: Benefits and Limitations of Current Treatment Strategies and Future Directions.** *Revista Espanola De Cardiologia* 2010, 63(1):60-76.

Pozn. Vitamín K a jeho antagonisté

- Vitamín K
 - Podporuje v játrech karboxylaci glutamátových zbytků v prekurzorech některých faktorů (II, VII, IX a X) a některých antikoagulačních faktorů za vzniku gama-karboxyglutamátu
 - Karboxylové skupiny nutné pro vazbu na povrch fosfolipidů, která je zprostředkována vápenatými ionty
- Strukturální analoga vitamínu K = 4-hydroxykumariny = „falešný vitamín K“
 - Fenoprokumon, warfarin
 - Nutné hledání optimální dávky pro každého pacienta zvlášť
 - Kontroly, hodnoty INR
 - Výhoda = je antidotum (= vitamín K)

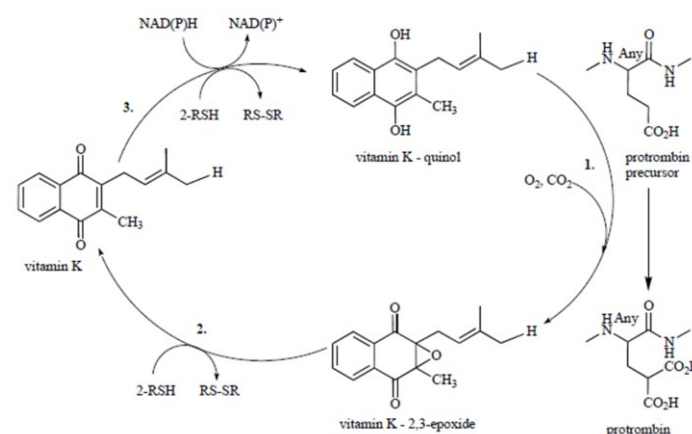
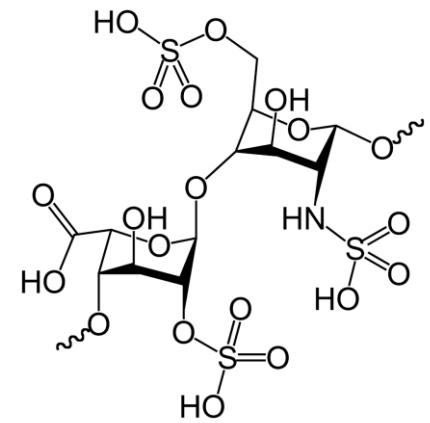


Fig. (15). The role of vitamin K in coagulation.

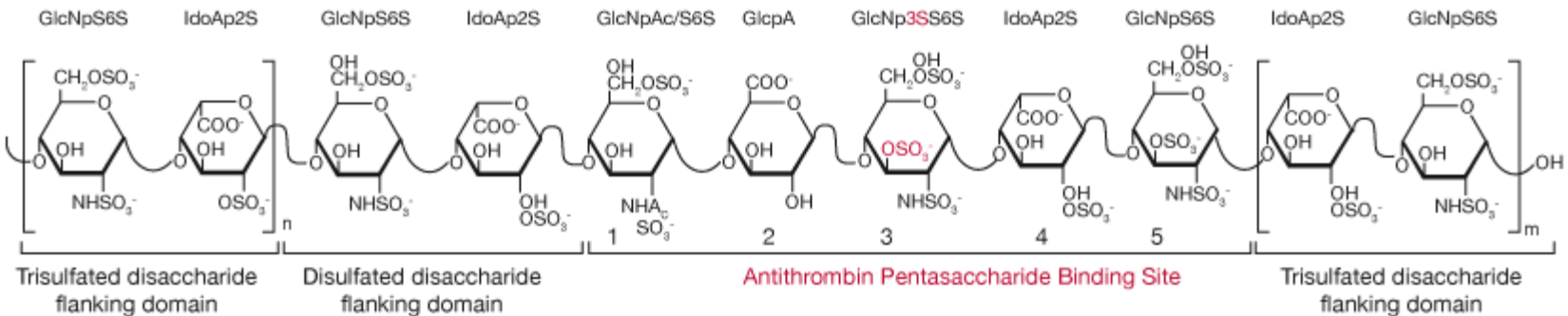
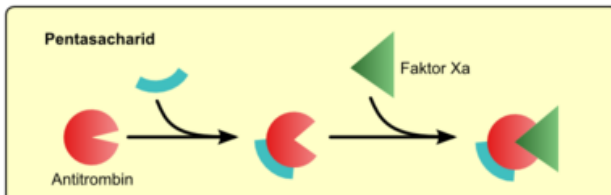
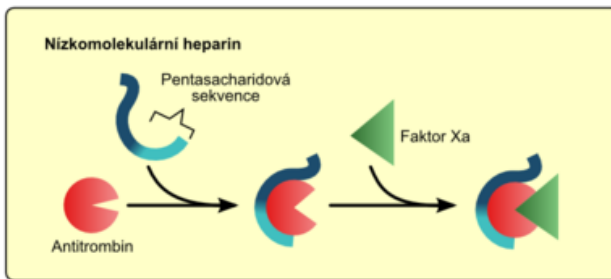
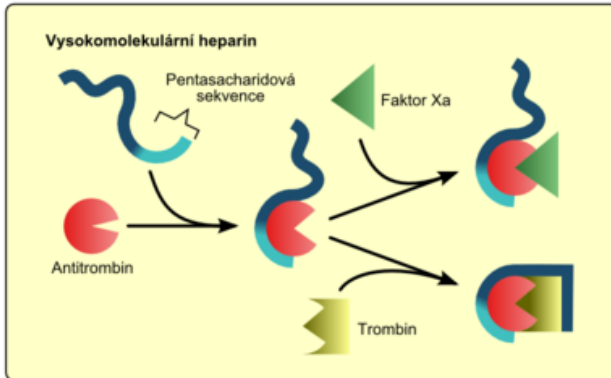
Převzato. Babula, P. et al. Noteworthy Secondary Metabolites Naphthoquinones - their Occurrence, Pharmacological Properties and Analysis. Current Pharmaceutical Analysis, 5(1), 2009.

Pozn. Heparin a hirudin a jejich deriváty

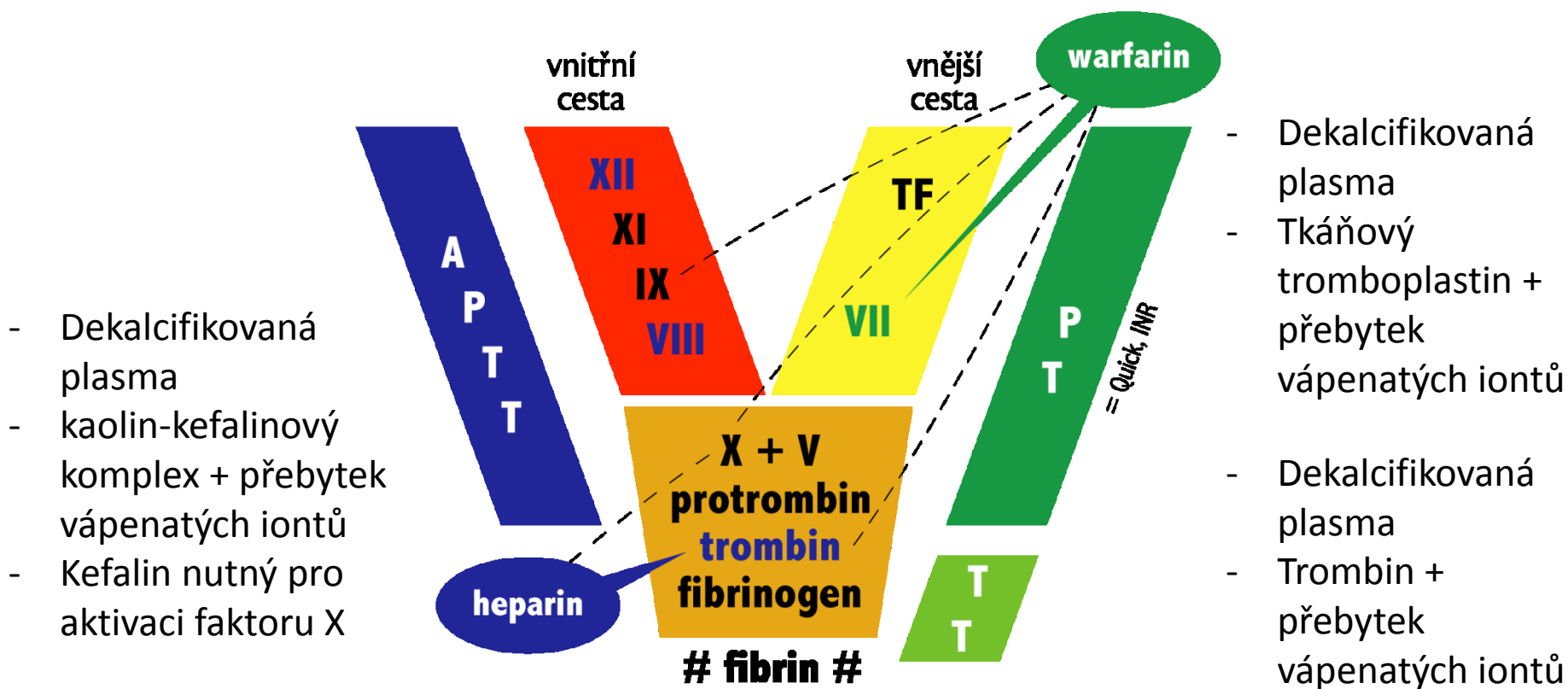
- Heparin
 - Zdrojem je střevní sliznice vepřů
 - Antikoagulační schopnost závisí na délce řetězců
 - Nefrakcionovaný standardní heparin (4000 – 40000 Da)
 - Nízkomolekulární frakcionovaný heparin (cca 5000 Da, certoparin, dalteparin, enoxaparin)
 - Syntetické deriváty (fondaparinux)
 - Aktivace antitrombinu III
 - Reverzibilní inaktivace trombinu a dalších koagulačních faktorů
- Hirudin a jeho deriváty
 - Zdrojem jsou sliny pijavice *Hirudo medicinalis*
 - Blokují aktivní centrum trombinu
 - Lepirudin, desirudin



Antikoagulancia - Nepřímé inhibitory trombinu / faktoru Xa



VYŠETŘENÍ KREVNÍ SRÁŽLIVOSTI

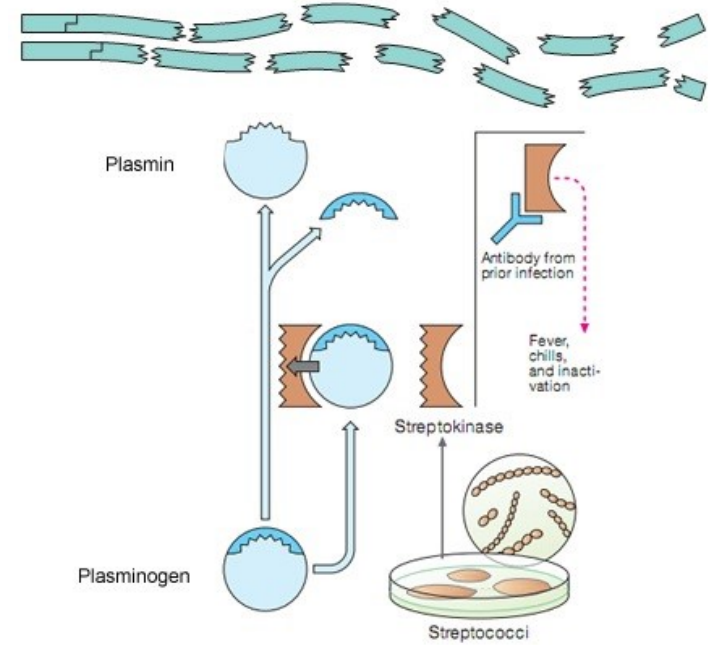
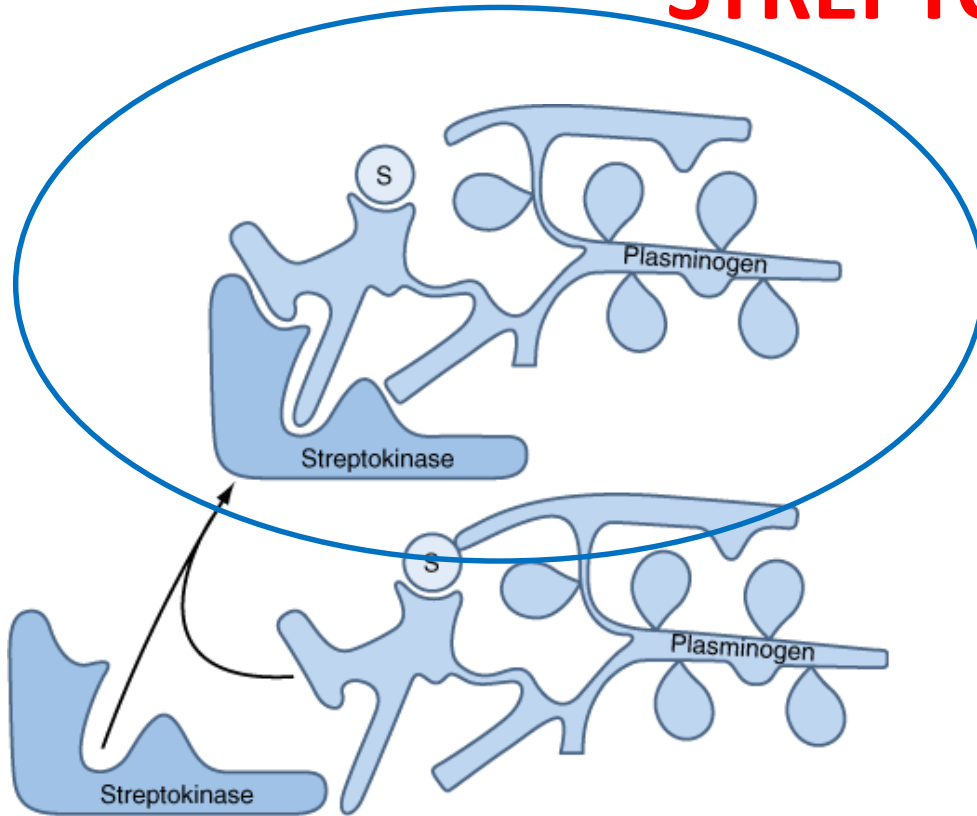


- Dekalcifikovaná plasma
- kaolin-kefalinový komplex + přebytek vápenatých iontů
- Kefalin nutný pro aktivaci faktoru X

- Dekalcifikovaná plasma
- Tkáňový tromboplastin + přebytek vápenatých iontů
- Dekalcifikovaná plasma
- Trombin + přebytek vápenatých iontů

- aPTT - Aktivovaný parciální tromboplastinový čas (aPTT), 28 – 40 s
- Quick – rychlost přeměny protrombinu na trombin 12 – 15 s; International Normalized Ratio 0,8 -1,2
- TT – trombinový čas 17 – 24 s
- Pozn. FDP (fibrinové degradační produkty) a D-dimery = markery koagulace s následnou fibrinolýzou

STREPTOKINÁZA



Source: Fauci AS, Kasper DL, Braunwald E, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J: *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 17th Edition: <http://www.accessmedicine.com>

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

- Beta-hemolytický streptokok
- Konverze plasminogenu na aktivní plasmin;
- Terapie tromboembolických stavů