

Ростовский государственный медицинский
университет

Воробьев В.Б.

ФИЗИОЛОГИЯ ГЕМОСТАЗА

Издательский дом «Проф-Пресс»
Ростов-на-Дону

2004

ЧАСТЬ 1

СОСТОЯНИЕ РЕГИОНАРНОГО ГЕМОСТАЗА У ПРАКТИЧЕСКИ ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ

Автор выражает свою благодарность за помощь в оформлении иллюстративного материала Колпакову Дмитрию Сергеевичу.

Воробьев В.Б.

В 75 Физиология гемостаза. Монография. Ростов н/Д.: Издательский дом «Проф-Пресс», 2004. — 192 с.; цветн. вкл.

Воробьев Владимир Борисович – доктор медицинских наук, профессор кафедры внутренних болезней №3 Ростовского государственного медицинского университета, член-корреспондент Российской Академии Естествознания.

Воробьев Владимир Борисович более 30 лет своей научной деятельности посвятил изучению проблем гемостазиологии. Им опубликовано более 100 научных трудов. Он является автором 7 изобретений. Владимир Борисович за изобретательскую деятельность награжден почетным знаком “Изобретатель СССР”.

Монография “Физиология гемостаза” является научным трудом, в котором автор впервые подробно излагает свои материалы прижизненного исследования трансрегионарного и трансоргального гемостаза у совершенно здоровых людей.

Данная монография рассчитана на широкий круг читателей, включая как врачей, так и студентов медицинских учреждений.

ISBN 5-94582-152-7

ББК 67.04

© Воробьев В.Б., 2004.

ГЛАВА 1

Введение. Материалы и методы исследований. Обзор литературы

В последние годы получили широкое распространение методы исследования свертывающей и противосвертывающей систем крови с целью диагностики и своевременного назначения патогенетической терапии разнообразных заболеваний. Однако, практически более 90% отечественной и зарубежной литературы по гемостазиологии посвящены обсуждению сведений, полученных при исследовании крови, забранной из вен верхних конечностей больных или здоровых людей. В тоже время, как можно опираться на полученные таким образом данные, если патологические процессы локализованы не в руках, а, например, в сердце, легких, печени, почках или в ногах? В данных случаях прибегают к сравнению с экспериментальными данными, основываясь на результатах исследований крови, забранной у животных из соответствующих регионарных вен или артерий. Однако, интерпретировать эти данные следует с большой осторожностью, так как, например, у собак фибринолитическая активность крови в несколько раз превышает таковую у человека (Кудряшов Б.А., 1975, Андреенко Г.В., 1979). Кроме того, имеются данные о том, что у

крыс по сравнению с людьми физиологические реакции свертывающей, противосвертывающей и фибринолитической систем протекают с существенными различиями (Nobukata H., et al., 1999). Одновременно с этим следует подчеркнуть тот факт, что, изучая в 2002 году, с помощью тромбоэластографии, состояние гемостаза (во время оперативных вмешательств у людей), – как в артериальной, так и в венозной крови (изъятой из легочной артерии), – Frumento R.J. с соавторами выявили многочисленные регионарные отличия гемостазиологических реакций. То есть, скорее всего, мы имеем дело не только с выраженными видовыми различиями гемостаза – у людей и животных, но и с уникальными механизмами гемокоагуляции, осуществлямыми в различных сосудистых регионах больного или здорового человека. Причем, именно у здоровых людей эти трансрегионарные и внутрирегионарные механизмы гемостаза до сих пор практически не изучены.

Таким образом, чтобы осмыслить патологические изменения в различных сосудистых регионах, нам необходимо было вначале изучить физиологическое состояние гемостаза в этих же регионах не только (и не столько), – у здоровых животных, но в первую очередь – у практически здоровых людей.

Принимая во внимание все выше изложенное, мы изучили состояние гемостаза в нескольких основных сосудистых регионах у 86 практически здоровых людей. Для этого нами проводился забор крови из кубитальных, почечных, печеночных, подвздошных вен, из легочной артерии, из аорты и ее магистральных ветвей, а так же из капилляров подушечек пальцев рук.

Взятие крови из кубитальных вен проводилось стандартными методами. Заборы крови из капилляров подушечек пальцев рук проводились с помощью пункций. Изъятие крови из остальных сосудов проводились селективно, с помощью специальных рентгенконтрастных ангиографических катетеров фирмы KIFA (Швеция) и CORDIS (США), в стерильных условиях операционных. Для исключения

влияния медикаментозных препаратов на гемостаз премедикация не проводилась. Катетеризация сосудов осуществлялась по методу Сельдингера трансфеморальным доступом под местной анестезией 0,25% раствором новокаина. Исследование проводилось на специально реконструированном для ангиографических целей рентгеновском аппарате TUR-1001 (ГДР). Под контролем электроннооптического усилителя катетер, после входа в бедренную артерию или вену, продвигался в различные сосудистые регионы. Режимы работы рентгеновского аппарата были следующие: напряжение 60–70 кВ, сила тока 0,4–1,0 мА, время включения аппарата от 1,5 до 3,0 минут, с кожной дозой рентгеновского облучения равной 0,48–1,0 R.

Контроль селективной катетеризации осуществлялся пробными введениями контрастного вещества (верографин 76% от 3,0 до 5,0 мл в каждое устье), с одновременной видеозаписью на видеомагнитофон SIRECORD X фирмы SIEMENS (ФРГ). Удовлетворившись, что катетер находится в нужном устье сосуда, проводился забор крови. Первые 3,0–4,0 мл забранной из катетера крови удалялись для полного исключения остатков контраста в пробах. Кровь помещалась в пробирки с консервантом (3,8% лимонно-кислый натрий), в соотношении: 9 частей крови и 1 часть консерванта. После помещения крови в пробирку с консервантом, пробирка закрывалась полихлорвиниловой пробкой и переворачивалась для перемешивания ее содержимого с частотой – одно перемешивание в течение двух секунд, в течение десяти раз. Этот режим перемешивания позволял с одной стороны оптимально контактировать крови с ее стабилизатором, а с другой стороны не позволял осуществляться образованию пены. Последний момент крайне важен, так как при образовании пены происходит автоматическая активизация многочисленных факторов гемостаза. В первую очередь осуществляется активизация фактора Хагемана – фактора «контакта», запускающего не только разнообразные механизмы гемостаза, но и провоцирующего активизацию каллекреин-кининовой сис-

темы (Иванов Е.П., 1983). Для атравматизации форменных элементов крови пробирки предварительно покрывались внутри силиконовой пленкой.

С целью контроля за электрической деятельностью сердца (ЭКГ, частота сердечных сокращений), состоянием гемодинамики (прямые измерения артериального и венозного давления, а также газового состояния крови), использовалась следующая функциональная аппаратура: MINGOGRAF-34 фирмы SIEMENS-ELEMA (ФРГ-ШВЕЦИЯ), 6 канальный осциллоскоп OPD 101 фирмы TESLA (ЧССР), биомониторная система RET (ГДР), 2 канальный осциллоскоп с дискретной памятью ОС 2П-01 (СССР), газоанализатор AVL-940 (Австрия) и оксигемометр 0-57 М (СССР).

Термином «гемостаз» обозначаются те биологические и биохимические процессы, которые с одной стороны участвуют в поддержании целостности сосудистых стенок кровеносных сосудов и жидкого состояния крови, а с другой – обеспечивают предупреждение и купирование кровотечений (Балудой В.П., и др. 1980). Следовательно, для комплексной оценки состояния гемостаза необходимо исследование его плазменных и клеточных факторов, и факторов сосудистой стенки, участвующих в реакциях свертывания, противосвертывания и фибринолиза. А также необходимо изучение тех компонентов гемостаза, которые активно взаимодействуют со стенкой сосуда, оказывая на нее как позитивное, так и негативное влияние. Именно данное основополагающее суждение о гемостазе обусловило выбор следующих методов его исследования.

В первую очередь мы выбрали тромбоэластографию, так как «этот объективный метод дает не только суммарное представление о характере любой фазы свертывания крови, но и указывает на состояние антикоагулирующих и лизирующих свойств крови» (Чазов Е.И., 1966). Следует отметить, что по прошествии многих лет со времени этой публикации до сих пор – многочисленные авторы так же указывают на уникальные свойства тромбоэластографии

как универсального метода оценки функционального состояния гемостаза (Ti LK., et al., 2002, Нернер D.L., et al., 2002, Абрахамс J.M., et al., 2002).

Запись тромбоэластограмм проводилась на двух синхронно настроенных тромбоэластографах ТРОМБ-2 (СССР). Тромбоэластограммы записывались с цельной кровью, с нативной плазмой и с бестромбоцитарной плазмой. Кроме того, записывались тромбоэластограммы с изъятой из подушечек пальцев рук капиллярной кровью. Расшифровка тромбоэластограмм осуществлялась с учетом структурной и временной коагуляции по Раби К. (1974), при использовании фазового анализа по Карпович П.Н. (1966), с учетом показателей тромбоэластограмм, описанных Чазовым Е.И. (1966) и Балудой В.П. и др., (1980). Следует подчеркнуть, тот факт, что описанные этими авторами, и в первую очередь – Раби К. (в 1974 году), – приемы дифференцированной тромбоэластографии и на сегодняшний день помогают универсально ориентироваться во множестве сложных нарушений гемостаза (Frumento R.J., et al., 2002).

Кроме того, для более глубокой оценки кинетики свертывания и противосвертывания крови мы применяли собственный тромбоэластографический метод оценки этих процессов (Воробьев В.Б., 1996), включающий в себя следующие приемы:

1. Определение потенциальной кинетической активности тромбоцитов.
2. Определение антикинетической активности эритроцитов.
3. Определение фактической кинетической активности тромбоцитов.
4. Определение общей активности неферментативного фибринолиза.
5. Определение тромбоцитарно-плазменной активности неферментативного фибринолиза.
6. Определение потенциальной (тромбоцит-эритроцит-

- независимой) активности неферментативного фибринолиза.
7. Определение тромбоцитарной активности неферментативного фибринолиза.
 8. Определение эритроцитарной активности неферментативного фибринолиза.
 9. Определение фактической плазменной (тромбоцит-эритроцит-независимой) активности неферментативного фибринолиза.

Так как, текучесть крови в значительной степени зависит от агрегационной активности тромбоцитов и эритроцитов, фибриногена, его комплексов, дериватов и продуктов деградации фибрина-фибриногена; активности тромбоксанов, уровня циклических нуклеотидов и бета-2-микроглобулина, а так же связана с перекисным окислением липидов (Баркаган З.С., 1980, Вершин В.Н. и др., 1982, Ефимов В.В., Ладный А.И., 1985), то это обусловило выбор перечисленных ниже методик.

Количество тромбоцитов определялось с помощью электронного счетчика фирмы «Пикаскел» (Венгрия). Количественное исследование тромбоцитов было обусловлено многими причинами. Так, например, по данным Riddell D.R. и Owen J.S. (1999), количество тромбоцитов в организме здорового человека составляет приблизительно 1000 миллиардов клеток. Тромбоциты постоянно осуществляют контроль за целостностью эндотелиального покрова сосудов. Повреждение этого покрова инициирует их скопление и адгезию в местах повреждений (те же авторы). В циркулирующей крови тромбоциты чаще представлены в виде безъядерных дисков. Примечательно, что объем тромбоцита составляет всего лишь 1/14 часть объема эритроцита. Кроме своих многочисленных гемостазиологических действий кровяные пластинки принимают участие и во множестве других самых различных процессах жизнедеятельности организма (Peerschke E.J., Ghebrehiwet B., 2001). Количество спонтанных тромбоцитарных агрегатов определяли

методом Wu K., Hoak J. (1976) на электронном счетчике фирмы «Пикаскел». Целесообразность изучения содержания спонтанных тромбоцитарных агрегатов была в первую очередь обусловлена тем, что в процессе агрегации кровяные пластинки экскретируют из себя большое количество крайне агрессивных веществ. Так, например, взаимодействие фактора фон Виллебранда с тромбоцитами приводит к увеличению в них содержания ионов Ca^{++} и активизирует синтез тромбоксана A-2 (Kermode J.C., et al., 1999), который является не только мощным тромбофилическим фактором, но и одним из самых сильных вазоконстрикторов (Chevalier D., et al., 2001).

АДФ индуцированную агрегацию тромбоцитов мы изучали по методу Born O'Brain (1962). Данный подход к изучению индуцированной агрегации кровяных пластинок был обусловлен тем, что именно аденоzinифосфат является универсальным инициатором процессов агрегации тромбоцитов (Foster C.J., et al., 2001). Кроме того, по данным Mahaut-Smith M.P., et al., опубликованным в 2000 году, именно аденоzinифосфат осуществляет процессы активизации тромбоцитов через их три аденоинфосфат-зависимых рецептора: P2X (1), П2И (1) и Р2Т (AC). Кроме того, мы приняли во внимание и тот факт, что аденоzinифосфат является еще и паракриновым медиатором, который активизирует тромбоциты для того, чтобы их поверхности стали «липкими» (Cusack N.J., Hourani S.M., 2000).

Количество эритроцитарных агрегатов определяли по Динтенфас (1962). Активность гидроперикисей липидов определялась по Гаврилову В.Б. и Мишкорудной М.И. (1983). Изучение гидроперикисей липидов было обусловлено не только тем фактом, что они являются свидетелями финального этапа арахидонового каскада, но тем, что они, как и другие реактивные (синглетные) формы кислорода – ROS, – стимулируют деятельность многочисленных киназ, фосфотаз и факторов транскрипции (Chen S., et al., 2000).

Активность тромбоксанов определялась собственным приоритетным методом (заявка на изобретение №3854788/

14). Примечательно, что синтезируемые тромбоцитами тромбоксаны, в дальнейшем, в свою очередь – инициируют процессы «скопления» тромбоцитов (Leese P.T., et al., 2000, Soslau G., et al., 2000), что ведет к вязкому метаморфозу тромбоцитов (Rosskopf D., 1999). Именно поэтому мы решили изучить активность тромбоксанов в различных сосудистых регионах практически здоровых людей.

Определение бета-2-микроглобулина, миоглобина, цАМФ, цГМФ мы осуществляли с помощью радионуклеидных наборов. Необходимость исследования этих веществ была обусловлена в частности тем, что по данным Woods M. и его коллег, опубликованных в 2000 году, цАМФ является ключевым регулятором многочисленных физиологических процессов. Согласно данным этих же ученых оказалось, что цитокин является прямым активатором аденилаткиназы – фермента необходимого для синтеза цАМФ. Одновременно с этим цитокин является и активатором фосфодиэстеразы. Эти же авторы выявили, что воздействие цитокина на человеческие сосудистые клетки в гладких мышцах ведет к увеличению синтеза данными клетками эндотелина-1 и к экспрессии мРНК. Наряду с этим мы должны были учитывать и тот факт, что синтезируемый преимущественно в печени тромбопоэтин (фактор регулирующий процессы синтеза тромбоцитов), так же является цитокином (Фред Дж. Шифф, 2000). Примечательно, что одновременно с этим, тромбопоэтин является ярким представителем гемопоэтического семейства «факторов роста» (Mijkawa Y., et al., 2001). В то же время исследование цГМФ было в значительной степени обусловлено тем, что данное вещество является в значительной степени маркером образования оксида азота и простациклина. Именно эти физиологические антиагреганты, вырабатываемые эндотелиоцитами в результате своей деятельности, увеличивают содержание цГМФ. Здесь следует особо отметить, что как оксид азота, так и простациклин обладают максимальным сосудорасширяющим

эффектом, осуществляемым путем взаимодействия с гладкомышечными клетками сосудов, с помощью ингибиования фосфодиэстераз. И, наконец, следует подчеркнуть, что именно данные реакции также ингибируют образование тромбоксанов (Geiger J., 2001). Таким образом, взаимосвязь указанных ранее механизмов взаимодействия описанных факторов обусловила необходимость их комплексного исследования.

Активность фибриназы изучалась нами по методике Buluk K., в модификации Андреенко Г.В. и Алтуховой С.Н. (1976). Тромбиновое время определялось по Szirmai E. Гепарин плазмы изучался по Баркагану З.С. и Баркагану Л.З. (1973). Наш интерес к гепарину был обусловлен не только тем, что он является главным прямым антикоагулянтом и прямым антагонистом тромбина. Одновременно с этими функциями гепарин обладает свойством подавлять процессы активного скопления тромбоцитов (Ahmad S., et al., 2000), и, что еще более важно, обладает свойствами связывать и непосредственно регулировать биоактивность факторов роста и таких цитокинов, как, например, основной фактор роста фибробластов и гамма-интерферон (Salek-Ardakani S., et al., 2000). Антитромбин-3 изучался нами методом Hensen A., Loeliger E.A. в модификации Бишевского К.М. (1980). Наш интерес к антитромбину-3 был обусловлен не только его прямым антагонистическим взаимодействием с тромбином, но и другим его уникальным свойством. Так, согласно данным Uchiba M. и Okajima K., опубликованным в 2000 году, антитромбин-3, взаимодействуя с гепарином, стимулирует генерацию простациклина в эндотелиальных клетках. И кроме того, эти же авторы доказали уникальный противовоспалительный эффект антитромбина-3, который в результате взаимодействия с протеином-C осуществляет ингибирование эндотелиального воспаления вызванного цитокинами.

Как известно, тромбин, взаимодействуя с молекулами фибриногена, отщепляет от них фибринопептиды с образо-

ванием многочисленных дериватов фибриногена (Lougovskoi E.V., Gogolinskaya G.K., 1999, Bark N., et al., 1999). Таким образом, исследование как фибринопептидов, так и дериватов фибриногена весьма необходимо для понимания физиологии процессов свертывания крови. Количественное определение бета-фибриногена, гепарин-фибриногена, фибрин-мономеров и растворимого фибрина осуществлялось по собственным приоритетным методикам (авторские свидетельства на изобретения: №1182399, №1367693, заявки на изобретения: №3852342/14, №3848974/14). Фибриноген после его выделения тромбином определялся по Лоури. Необходимость исследования фибриногена была обусловлена не только тем его общеизвестным основным качеством – являться основой для образования фибриновых сгустков, но и другими его специфическими функциями, играющими значительную роль в поддержании равновесия, как гемостаза, так, и гомеостаза. Примечательно что, по данным Smiley S.T., et al., (2001), фибриноген обладает уникальным свойством индуцировать синтез воспалительных белков в макрофагах и хемоатрактантов в моноцитах. Кроме того, фибриноген (по данным тех же авторов), активизирует моноциты для синтеза хемокинов. Одновременно с этим, (Smiley S.T., et al., 2001), выходя за пределы сосудистого русла, фибриноген стимулирует экспрессию хемокинов макрофагами. Весьма интересным является и тот факт, что фибриноген, взаимодействуя с тромбоцитарным рецептором – интегрином – alpha IIb beta, – инициирует реорганизацию цитоскелета тромбоцитов, для осуществления дальнейших процессов «вязкого метаморфоза» (Shiraga M., et al., 1999). И, наконец, что также весьма примечательно, в 2001 году были получены данные о том, что фибриноген интенсивно регулирует содержание мРНК фибронектина в фибробластах (Pereira M., Simpson-Haidaris P.J.). Это еще раз подтвердило необходимость проведения исследований содержания как фибриногена, так и фибронектинов у здоровых людей.

Продукты деградации фиброна-фибриногена выделялись по Nanningo L.B., Guest M.M. (1967) и в дальнейшем определялись количественно по Лоури. Фракции продуктов деградации фиброна-фибриногена определялись с помощью гельэлектрофореза в полиакриловом геле, против соответствующих молекулярных маркеров.

Принимая во внимание роль фибронектинов и их комплексов в сохранении целостности сосудистых оболочек с одной стороны, и напротив их активное влияние на факторы гемостаза – с другой стороны, а также учитывая их способности создавать комплексы с факторами гемостаза (Зинкевич О.Д. и др., 1986, Котелянский В.Э. и др., 1987, Васильев С.А. и др., 1987, Чулкова Т.М., Панасюк А.Ф., 1987, Бабаев В.Р. и др., 1988, Жадкевич М.М. и др., 1988, Абакумова О.Ю. и др., 1989, Юранек И.О. и др., 1989, Васильева Е.В. и др., 1991, Васильев С.А. и др., 1992, Каррыева Б.Ч. и др., 1992), – мы посчитали необходимым изучить содержание фибронектинов и их комплексов, а также исследовать литическую активность фибронектинов и их комплексов с факторами гемостаза.

Кроме указанных данных это решение было обусловлено и другими фактами. В 2000 году стало известно, что фибронектин является многофункциональным гликопротеидом с молекулярной массой $M=530$ кт/молей (Pelta J., et al). Несколько ранее – в 1999 году Corbett S.A. и Schwarzbauer J.E. доказали, что инкорпорация фибронектина в фибриноген значительно улучшает процессы ретракции фибринового сгустка. Кроме того, Rao W.H. с соавторами в 2000 году выявили эффект стимуляции Т-лимфоцитов фибронектином для дальнейшей активизации интегрина. Согласно данным Wu M.H. и его сотрудников (2001), интегрин является опосредованной эндотелиальной (cellextracellular) матричной спайкой, которая играет критическую роль в поддержании герметичности капиллярных стен. В тоже время следует отметить и тот факт, что интегрин специфично взаимодействует (при внеклеточном

закреплении домена к матричному фибронектину) с витронектином, интенсивно влияя при этом на функции барьера капиллярного эндотелия (те же авторы). Примечательно, что несколько ранее, в 2000 году, Constantin G. с соавторами обнаружил то, что хемокины активизируют деятельность интегрина для процессов взаимодействия (адгезии) лимфоцитов с эндотелиоцитами. Тогда же в 2000 году Nagase H. с соавторами опубликовал данные о том, что хемокины осуществляют процессы накопления (положительного хемотаксиса) эозинофилов.

Выделение фибронектинов осуществлялось нами методом Васильева С.А. и соавторов (1987). Выделенные фибронектины и их комплексы определялись количественно с использованием метода Лоури, а их литическая активность определялась на стандартных фибриновых пластинках (метод создания фибриновых пластинок описан Грицюк А.И., 1969).

Как известно, физиологическое регулирование фибринолиза играет крайне важную роль в контроле за состоянием гемостаза (Fareed J., et al., 1999). Поэтому детальное изучение деятельности фибринолитической системы у практически здоровых людей – имеет большое научное значение. Фибринолитическая активность эуглобулиновой фракции плазмы определялась по Kowalski E., Korek M., Niewiarowski S.J. (метод описан Грицюк А.И., 1969). Данная методика позволяет оценить потенциальную фибринолитическую активность плазмы, так как эуглобулиновая фракция плазмы не содержит ингибиторов активации плазминогена и антиплазминов (Грицюк А.И., 1969). Методика применялась в виде микроварианта. Общая фибринолитическая активность плазмы, плазмин, антиплазмины, активаторы плазминогена и ингибиторы активации плазминогена определялись по Astrup T., Kowalski E., Lassen M., в модификации Грицюк А.И. (1969). Изучение плазминовой активности было обусловлено не только его ведущей ролью в системе ферментативного фибринолиза. На-

ряду с этими данными в последние годы появились и новые факты об иных весьма своеобразных свойствах данного фермента. Так, например, стало ясно, что плазмин инициирует активность матричных металлопротеиназ. Примечательно, что главные ферменты, ответственные за матричное разложение, – именно – матричные металлопротеиназы. Физиология этих ферментов весьма сложна, и их активность регулируется на многих уровнях. Так например, преобразовывающий фактор роста – tgt-бета – обладает свойством уменьшать экспрессию матричных металлопротеиназ (McLennan S.V., et al., 2000). Кроме того, в 1999 году выяснилось, что и плазмин и плазминоген принимают активное участие как в процессах заживления тканей, так и в процессах перимоделирования самых различных, ранее поврежденных, – тканей (Kang H.M., et al.). Изучение активаторов плазминогена также не основывалось только на их участии в процессах фибринолиза. Несколько позже, в 2001 году Uematsu T. с коллегами описали факт участия активатора плазминогена в процессах инициации активности фактора роста гепатоцитов. Исследование ингибиторов активатора плазминогена также было обусловлено, не только влиянием этих факторов на гемостаз. Напротив, их исследование обосновывалось совершенно другим и весьма необычным фактом – эти вещества обладают свойством ингибировать апоптоз моноцитов (Ritchie H., Fragoyannis A., 2000). Исследование фибринолитической активности дериватов и комплексов фибриногена, а также продуктов деградации фибрина-фибриногена (способы их выделения описаны ранее), осуществлялось на стандартных фибриновых пластинках.

Вариационно-статистическая обработка материала проведена с применением непараметрического метода Вилкоксона-Мана-Уитни.

ГЛАВА 2

Состояние регионарной кинетики свертывания крови

Анализируя состояние кинетики свертывания крови у здоровых людей в различных сосудистых регионах, мы выявили ряд ранее не известных фактов. Так, на тромбоэластограммах, записанных с цельной кровью, взятой из подвздошной и кубитальной вен, хронометрические показатели свертывания крови отражали существенно большую скорость течения процессов коагуляции, нежели эти же показатели на тромбоэластограммах с кровью, взятой из других сосудистых регионов (показатели тромбоэластограмм представлены графически на рис. 1–6).

Причем, эта тенденция, в крови из общей подвздошной вены осуществлялась за счет всех трех фаз свертывания, а в кубитальной вене только за счет первой и второй фаз свертывания. Скорость образования фибриновых нитей как в кубитальной, так и в общей подвздошной вене была одинакова, но в тоже время – существенно большей, чем в других сосудистых регионах (почти в 1,5 раза процесс осуществлялся быстрее, чем в крови из аорты и печеночной вены, и в 1,6 раза быстрее, чем в крови из почечных вен). Следует отметить, что скорость образования фибриновых нитей медленнее всего осуществлялась в цельной крови из почечных вен. В этой же крови регистрировалась самая медленная скорость появления активного тромбопластина. Напротив, в цельной крови, изъятой из общей подвздошной вены, процесс появления активного тромбопластина происходил быстрее всего (например, в 1,8 раз быстрее, чем в крови, изъятой из почечных вен). Там же, в крови из подвздошной вены, быстрее всего протекала третья фаза свертывания (в 2 раза быстрее, чем в крови, изъятой из аорты, кубитальных и почечных вен). На максимальную быстроту образования фибрина в цель-

ной крови в забранной из общей подвздошной вены (по сравнению с другими регионами), также указывало резкое увеличение угловой константы и константы тромбоэластографического индекса «*i*».

В тоже время контрактимальные свойства кровяного сгустка проявлялись интенсивнее всего в крови, взятой из кубитальной вены, на это указывали в первую очередь такие показатели тромбоэластограмм как максимальная амплитуда «*Ma*», эластичность сгустка «*E*» и специфическая константа коагуляции «*m*».

Таким образом, процессы свертывания цельной крови (по данным тромбоэластографии), быстрее и интенсивнее всего происходили в общей подвздошной и кубитальной вене. Однако, следует отдельно отметить следующий примечательный факт. По данным тромбоэластограмм с цельной кровью самым активным регионом, из которого в венозную кровь поступает тромбин, являются почки. На это указывал самый большой показатель «*g/k*» на тромбоэластограммах с цельной кровью, изъятой из почечных вен, он в 1,2–1,5 раз превышал таковые на тромбоэластограммах с цельной кровью, изъятой из других сосудистых регионов.

При анализе тромбоэластограмм, записанных с нативной и с бестромбоцитарной плазмой, прослеживались аналогичные закономерности, что и на тромбоэластограммах с цельной кровью, – в виде преобладания коагуляционных процессов в крови, изъятой из общей подвздошной и кубитальной вен. Однако, на тромбоэластограммах с нативной плазмой отсутствовали признаки интенсивности течения 3-й фазы свертывания в регионе общей подвздошной вены. В то же время на тромбоэластограммах с бестромбоцитарной плазмой мы зарегистрировали тот факт, что хронометрические показатели 3-й фазы, отражали гораздо медленно текущие процессы свертывания, нежели аналогичные показатели на тромбоэластограммах плазмы, изъятой из других сосудистых регионов. Так, например, согласно величинам показателей специфической констан-

ты коагуляции « t », эти процессы в бестромбоцитарной плазме, взятой из общей подвздошной вены, протекали почти в 2 раза медленнее, нежели в бестромбоцитарной плазме, забранной из печеночной вены.

Особо следует обратить внимание на выделяющуюся среди подобных величину константы биологического синерезиса « Ma/c », на тромбоэластограммах с цельной кровью из общей подвздошной вены. Она не только была значительно больше констант биологического синерезиса крови из других сосудистых регионов, но и была больше таковых на тромбоэластограммах с нативной и бестромбоцитарной плазмой в самой подвздошной вене. Данная константа является фундаментальным критерием оценки контрактильных свойств сгустка. То есть, контрактильные свойства сгустка цельной крови из общей подвздошной вены были гораздо больше таковых в крови из других сосудов. Это во-первых. А во-вторых, следует однозначный вывод – эритроцитарные факторы свертывания в крови из общей подвздошной вены значительно интенсивнее, чем тромбоцитарные факторы, регулируют кинетику уплотнения сгустка (константа « Ma/c » на тромбоэластограммах с цельной кровью, из общей подвздошной вены была в 1,7 раза больше таковой на тромбоэластограммах с нативной плазмой).

Общеизвестно, что эритроциты двояко воздействуют на гемокоагуляцию:

с одной стороны – путем собственной агрегации повышают тромбогенный потенциал крови, с другой – активизируют деятельность физиологических дезагрегантов, снижая сродство поверхности тромбоцитов друг к другу и к молекулам фибриногена. С учетом данной информации представляют большой интерес следующие выявленные нами факты. Так, количество спонтанных эритроцитарных агрегатов в крови из подвздошной вены составляло всего $1,31 \pm 0,04$ УЕ., что было существенно ниже таковых в крови из других сосудистых регионов, но количество спонтанных тромбоцитарных агрегатов составляло в крови из об-

щей подвздошной вены $11,71 \pm 1,11$ УЕ, что наоборот было существенно больше, чем в крови из остальных сосудистых регионов. То есть, эритроциты, пройдя через систему микроциркуляции нижних конечностей теряют (в значительной степени), свое важнейшее свойство – ингибировать тромбоцитарную агрегацию. Таким образом, даже у вполне здоровых людей в нижних конечностях имеются гораздо большие условия для развития венозного тромбообразования, чем в любых других исследованных нами сосудистых регионах.

Продолжая рассматривать изменения показателей тромбоэластограмм, можно отметить еще ряд интересных закономерностей. Так, в нативной плазме из вен нижних конечностей 1-я и 2-я фазы свертывания протекают интенсивнее, нежели в нативной плазме из других исследованных нами сосудистых регионов. Кроме того, структурная коагуляция в нативной плазме из вен верхних и нижних конечностей осуществляется более интенсивно, чем в нативной плазме, забранной из других сосудистых регионов. Медленнее всего 1-я фаза свертывания протекает в нативной плазме из печеночных вен. Вторая фаза свертывания медленнее всего осуществляется в нативной плазме из почечных вен. Показатели структурной коагуляции в нативной плазме из печеночной вены отражают вязкость полимеризации фибрина. Так, в частности, угловая константа на тромбоэластограммах с нативной плазмой из печеночной вены составляла всего $20,5 \pm 1,5$ градусов, а на тромбоэластограммах с нативной плазмой, взятой из кубитальной вены, данная константа достигала $33,5 \pm 2,7$ градусов ($P < 0,001$). Самые слабые кинетические свойства тромбоцитарно-фибринового сгустка выявлены нами на тромбоэластограммах с нативной плазмой из почечных вен. Так показатель максимальной амплитуды « Ma » на тромбоэластограммах с нативной плазмой из почечных вен, был меньше такового на тромбоэластограммах с нативной плазмой, взятой из кубитальной вены ($P < 0,001$), а индекс тромбодинамического потенциала был меньше почти в 3 раза.

Особо следует отметить следующий факт – наличие максимального уровня константы использования протромбина тромбопластином при тромбинообразовании («г/к»), на тромбоэластограммах с нативной плазмой, полученной из общей подвздошной вены. Данный показатель составлял там $2,2 \pm 0,09$ УЕ. В тоже время его минимум был зарегистрирован на тромбоэластограммах с нативной плазмой, взятой из кубитальной вены, – $1,7 \pm 0,7$ УЕ. Этот же показатель на тромбоэластограммах с нативной плазмой из общей подвздошной вены был больше на 40% аналогичного на тромбоэластограммах с нативной плазмой из почечных вен. Интересно то, что данный показатель был больше не только таковых на тромбоэластограммах с нативной плазмой, взятой из других сосудистых регионов, но и больше, чем на тромбоэластограммах с цельной кровью и с бестромбоцитарной плазмой в самой подвздошной вене. То есть, тромбообразование в нативной плазме осуществляется более интенсивнее, чем в цельной крови из общей подвздошной вены. Так как после изъятия эритроцитов из образцов, использованных для записи тромбоэластограмм с нативной плазмой, показатель «г/к» увеличивался почти в 2 раза, то можно думать, что красные кровяные клетки в венах нижних конечностей активно подавляют образование тромбина. Данный факт подтверждается тем, что после изъятия эритроцитов толерантность плазмы, взятой из общей подвздошной вены, к тромбиновому воздействию максимально возрастает по сравнению с таковой в плазме, взятой из других сосудистых регионов. Данное положение подтверждается тем фактом, что в нативной плазме из общей подвздошной вены биохимический показатель – тромбиновое время было самым быстрым – $19,0 \pm 0,6$ секунды. В то же время аналогичные показатели в нативной плазме, взятой из других сосудистых регионов, были гораздо большими. Например, в нативной плазме, взятой из кубитальной вены, тромбиновое время было самым медленным – $29,7 \pm 1,3$ секунды ($P < 0,001$). Таким образом, несмотря на то что эритроциты в системе микроциркуляции

нижних конечностей в значительной степени теряют свою способность блокировать агрегацию тромбоцитов, это явление частично компенсируется их антитромбинообразующим эффектом, что в определенной степени способствует сохранению физиологического равновесия гемостаза в данном регионе.

Кроме перечисленных выше результатов исследований регионарной кинетики свертывания крови, по нашему мнению, представляет интерес еще один факт. Дело в том, что 3-я фаза свертывания протекает в бестромбоцитарной плазме взятой из вен верхних и нижних конечностей гораздо медленнее, нежели в бестромбоцитарной плазме, взятой из почечных и печеночных вен. Так например, специфическая константа коагуляции «т» на тромбоэластограммах с бестромбоцитарной плазмой, из общей подвздошной вены была на 55% длиннее таковой на тромбоэластограммах с бестромбоцитарной плазмой взятой из почечных вен. Почему же изъятие тромбоцитов (при получении бестромбоцитарной плазмы), так значительно меняет течение 3-й фазы свертывания в сосудистом регионе вен конечностей? Тем более, что структурная коагуляция как раз в общей подвздошной и кубитальной венах была выражена максимально по всем трем фазам свертывания, а в почечных венах – минимальна, опять же по этим трем фазам. Так как этот феномен происходит после удаления из проб тромбоцитов, то логично объяснить данный процесс особенностью функционирования кровяных пластинок, так они действуют и на скорость и на интенсивность процессов свертывания крови. Удаление тромбоцитов из плазмы, полученной из вен конечностей, не существенно меняет интенсивность свертывания, но зато резко меняет скорость данного процесса. Иными словами, тромбоциты, пройдя через ткани конечностей, приобретают свойство резко ускорять процессы свертывания.

Проводя анализ потенциальной и фактической кинетической активности тромбоцитов, и антикинетической активности эритроцитов мы выявили ряд крайне интересных

фактов, которые на первый взгляд мало согласуются с ранее описанной информацией. Так, самое необычное, на наш взгляд, мы выявили при изучении кинетической активности тромбоцитов и антикинетической активности эритроцитов в регионе нижней полой вены. Именно в крови из нижней полой вены потенциальная кинетическая активность тромбоцитов составляла $53,75 \pm 1,34$ УЕ, а фактическая кинетическая активность была всего $34,76 \pm 1,21$ УЕ. И тот, и другой показатель были самыми низкими по сравнению с аналогичными в крови, взятой из других сосудистых регионов. Одновременно с этим в крови, взятой из общей подвздошной вены, регистрировался самый высокий уровень антикинетической активности эритроцитов ($18,99 \pm 1,11$ УЕ). Чем же можно было объяснить эту весьма необычную ситуацию? Как известно эритроциты не имеют на своей поверхности специфических рецепторов способных связывать тромбин (Умарова Б.А. и др., 1989). Однако, в составе эритроцитарных мембран находится тромбопластин обладающий высокой активностью (Ашкинази И.Я., Ярошевский А.Я., 1964, Курдяшов Б.А., 1975), который освобождается из этих мембран под воздействием продуктов перикисного окисления липидов (Мищенко В.Н., 1981). При этом продукты перикисного окисления липидов активизируют фосфолипазу А-2, которая осуществляет гидролиз фосфолипидных структур внешней мембранных эритроцитов (Акалаев Р.Н. и др., 1992). Все это позволяет эритроцитарному тромбопластину вступать в ферментные реакции с протромбином крови, следствием чего является образование тромбина. Образовавшийся практически внутри поврежденной внешней мембранный тромбин осуществляет процессы полимеризации фибринна. И как финальное следствие этих процессов является образование между эритроцитами фибриновых нитей или «мостиков». Примечательно, что именно в крови, взятой из общей подвздошной вены, активность гидроперикисей липидов практически в 3 раза превышала таковую в крови, взятой из аорты, и составляла $2,038 \pm 0,032$ диеновых конъ-

югата. Иными словами имелись все необходимые предпосылки для резкого подавления антикинетической активности эритроцитов в крови из общей подвздошной вены. Но, как мы ранее указывали, ничего подобного не наблюдалось, и напротив регистрировался совершенно другой процесс – процесс существенного повышения антикинетической активности эритроцитов.

Почему же все это происходило? В организме как больного, так и практически здорового человека, постоянно (конечно с различной интенсивностью) происходят процессы фибринообразования и фибриноразрушения, в результате которого образуются ПДФ – продукты деградации фибринна-фибриногена (Андреенко Г.В. Подорольская Л.В., 1983, Ермолин Г.А. и др., 1984, Heene D.L., Genth K., 1984, Ена Я.М. и др., 1985, Белоусов Ю.Б. и др., 1986). Примечательно, что фрагмент ПДФ-Е ингибирует образование активного тромбопластина и является ингибитором тромбина, а фрагмент ПДФ-Д тормозит полимеризацию фибринна в 10 раз (Белицер В.А., Варецкая Т.В., 1975, Тимошенко Л.И., 1976). Как оказалось в крови, полученной из нижней полой вены имеется максимальное содержание ПДФ «Е» и «Д», по сравнению с остальными регионами. Наибольшая разница наблюдалась при сравнении этих показателей с аналогичными в крови, полученной из аорты. Так ПДФ-Е в крови из нижней полой вены было в 2,4 раза больше, чем в крови из аорты, а ПДФ-Д – в 1,7 раза. Фракции Е и Д продуктов деградации фибринна-фибриногена представляют группу из нескольких веществ с различными молекулярными весами, но с одинаковыми биохимическими свойствами. Так ПДФ-Е нам удалось разогнать при гель-электрофорезе на 4 субфракции (ПДФ: 5,6,7 и 8), а ПДФ-Д – на 3 субфракции (ПДФ: 9,10 и 11). При сравнении показателей с учетом субфракций были выявлены еще более впечатляющие результаты. Так, в крови из подвздошной вены количество продуктов деградации фибринна-фибриногена «Е»-5 было в 13,2 раза большим, чем в крови, полученной из аорты, а количество продуктов деградации фиб-

рина-фибриногена «Д»-10 составляло $0,192 \pm 0,022$ г/л, при его полном отсутствии в крови, полученной из аорты! Таким образом, полученные нами результаты изучения содержания фракций и субфракций продуктов деградации фибрина-фибриногена «Е» и «Д» в полной мере объясняли не только наличие выраженной антикинетической активности эритроцитов в крови, полученной из нижней полой вены, но и одновременно давали объяснение еще одному крайне необычному факту. Дело в том, что именно в крови, полученной из аорты, мы регистрировали НУЛЕВУЮ антикинетическую активность эритроцитов. Из выше изложенных фактов становится ясным, что низкое содержание фрагментов и субфрагментов ПДФ «Е» и «Д», вплоть до их отсутствия, полностью блокировало антикинетическую активность эритроцитов в артериальной крови. Причем, в артериальной крови отсутствовал не только субфрагмент ПДФ «Д»-10, но и субфрагменты ПДФ «Е»: 6 и 7.

Чем же, в свою очередь, можно было объяснить наличие в исследуемой нами крови, полученной из нижней полой вены, минимальных показателей потенциальной и фактической кинетической активности тромбоцитов? Дело в том, что в отличие от эритроцитов, тромбоциты имеют на своей поверхности специфические рецепторы к тромбину. Тромбин при взаимодействии с тромбоцитами вызывает агрегацию и вязкий метаморфоз тромбоцитов. Именно вязкий метаморфоз является одним из основных проявлений кинетической активности тромбоцитов.

В тоже время, как мы указывали ранее, фрагменты продуктов деградации фибрина-фибриногена типа «Е» ингибируют образование тромбопластина и являются прямыми ингибиторами тромбина. За эту высокую ингибирующую тромбинактивность ПДФ-«Е» получили в свое время название «антитромбина-6», еще в 1958 году (Niewiarowski S., Kowalski E.). Как мы уже ранее говорили, количество ПДФ-Е было максимальным в крови, полученной из подвздошной вены, превышая аналогичный показатель в крови, полученной из аорты, в 2,4 раза. Из выше изложен-

ного становится понятным, что «антитромбин-6», ингибируя тромбин, существенно снижал как потенциальную, так и фактическую кинетическую активность тромбоцитов в крови из подвздошной вены.

Итак, причины изменения кинетической и антикинетической активности форменных элементов крови нам стали в значительной степени понятными, и объяснялись увеличением содержания ПДФ «Е» и «Д» в крови, взятой из общей подвздошной вены. Но почему их содержание там увеличивалось? Ведь данный факт указывал на усиление процессов разрушения фибрина-фибриногена в регионе общей подвздошной вены по сравнению с другими сосудистыми регионами. Как известно, фибрин разрушается в физиологических условиях системой ферментативного фибринолиза, а именно – плазмином и в гораздо меньшей степени факторами неферментативного фибринолиза, например – гепарин-фибриногеном (Батиста Диас А., 1982, Лычев В.Г. и др., 1984, Зубаиров Д.М. и др., 1989, Воробьев Э.В., Воробьев В.Б., 1996, Бровкович Э.Д. и др., 1999). Однако, как оказалось, содержание плазмина в крови, полученной из нижней полой вены, было одним из самых низких, по сравнению с аналогичными показателями в крови, полученной из других регионов. Например, его уровень в крови из нижней полой вены был в 4,4 раза меньше, нежели в крови, полученной из аорты. Таким образом, мало вероятно, что именно плазмин активизировал разрушение фибрина в регионе нижней полой вены. В то же время, уровень гепарин-фибриногена в крови, полученной из нижней полой вены достигал $1,45 \pm 0,021$ г/л, что было абсолютным максимумом по сравнению с аналогичными показателями в крови, полученной из других сосудистых регионов. Его содержание в крови из нижней полой вены превышало аналогичное в крови, полученной из аорты, в 5,2 раза. Таким образом, в отличие от всех других регионов интенсификация образования фрагментов и субфрагментов ПДФ «Е» и «Д» в регионе нижней полой вены осуществлялась за счет активизации неферментативного фибринолиза.

Итак, подтвердив общеизвестные факты о наличии в физиологических условиях процесса непрерывного фибринообразования и фибриноразрушения, мы решили выяснить на каком уровне осуществляются данные реакции. А именно, на уровне магистральных сосудов или на уровне микроциркуляции. Так как провести функциональный забор крови из внутренних органов здорового человека не представлялось возможным, а аналогичные заборы капиллярной крови из органов животных не могли дать достоверной информации из-за видовой разницы, то мы решили идти по следующему пути. Моделью, которая могла бы в какой-то мере отражать состояние гемостаза на уровне микроциркуляции, могла быть тромбоэластография с использованием капиллярной крови, забранной из подушечек пальцев рук. Конечно же, во время пункции подушечек пальцев повреждаются не только капилляры, но и артериолы и венулы, так что назвать данный метод капиллярной тромбоэластографией можно весьма условно. Однако, так как данная пункция повреждает в основном именно мелкие сосуды (капилляры, артериолы и венулы), то кровь, полученная из этих структур фактически несет информацию о состоянии микроциркуляторного гемостаза.

Итак, что же мы получили, сравнивая показатели тромбоэластограмм с цельной кровью, полученной из аорты, кубитальной вены и микрососудов подушечек пальцев рук практически здоровых людей. Перед тем как ответить на этот вопрос, мы предварительно изучили состояние гемостаза в крови, забранной из аорты (на ее различных уровнях), и из ее магистральных ветвей. При статистической обработке оказалось, что артериальная кровь, как в аорте (забранная на ее различных уровнях), так и в магистральных артериях (кроме легочной артерии, которая по существу является венозным сосудом), практически не отличается по своим гемостазиологическим свойствам. Возможно, данный факт обусловлен высокой скоростью артериального кровотока, возможно – другими причинами. Но все же возвратимся к сравнению показателей тромбо-

эластограмм. Как оказалось, показатели максимальной амплитуды и эластичности сгустка на тромбоэластограммах с «капиллярной» кровью существенно преобладали над аналогичными показателями на тромбоэластограммах с цельной кровью, полученной из аорты или из кубитальной вены. Например, на тромбоэластограммах с цельной артериальной кровью показатель эластичности сгустка составлял всего лишь $98,8 \pm 7,7$ УЕ, тогда как на «капиллярных» тромбоэластограммах он достигал $135,6 \pm 3,6$ УЕ ($P < 0,001$). Иными словами мы получили в достаточной степени достоверный ответ на поставленный нами вопрос: «Где происходит физиологическое фибринообразование?» Оно происходит в системе микроциркуляции. Данное положение основано на том, что указанные нами показатели отражают значительно большую интенсивность процессов полимеризации фибрина в системе микроциркуляции, нежели в артериальном или венозном регионах. Конечно же, системы микроциркуляции в различных регионах, несомненно, должны различно воздействовать на гемостаз и использовать «капиллярную» тромбоэластографию как высокоинформативный метод для оценки всего микроциркуляторного гемостаза организма достаточно опрометчиво. Более достоверным может быть только сравнение процессов гемокоагуляции в притекающей и оттекающей от региона крови, то есть изучение трансрегионарного гемостаза. И в этом аспекте нам показалось интересным изучить агрегационные и дезагрегационные реакции тромбоцитов в процессе их прохождения через различные регионы.

В процессе агрегации и вязкого метаморфоза тромбоциты синтезируют внутри себя из арахидоновых кислот тромбоксаны, которые немедленно после синтеза экскретируются в окружающую среду (Heptinstall S., 1984, Шалаев С.В., 1989, Габриелян Э.С. и др., 1990, Федоров Н.А. и др., 1990, Воробьев В.Б. и др., 1996, Фред Дж. Шиффм. 2000, Soslau G., et al., 2000, Fabre J.E., et al., 2001).

Как же меняется активность тромбоксанов в различных сосудистых регионах здоровых людей? Оказалось, что

в плазме из общей подвздошной вены активность тромбоксанов значительно превышала таковую в плазме из любого другого исследуемого сосудистого региона и составляла $49,34 \pm 5,56$ УЕ. Таким образом, несмотря на то, что тромбоциты в крови полученной из подвздошной вены обладают самой низкой (по сравнению с таковой в крови из других регионов), потенциальной и фактической кинетической активностью, они, пройдя через систему микроциркуляции нижних конечностей резко активизируют синтез и экскрецию тромбоксанов. То есть, система микроциркуляции нижних конечностей гораздо активнее, чем аналогичные системы синтезирует факторы, активизирующие синтез тромбоксанов из арахидоновых кислот. Таким фактором, инициирующим в тромбоцитах синтез из арахидоновых кислот тромбоксанов, является тромбин (Block H.U. et al., 1984, Викторов А.В. и др., 1988, Федоров Н.А. и др., 1990, Rosskopf D., 1999, Huang Y.Q., et al., 2000). Как мы ранее указывали, при обсуждении показателей тромбоэластограмм, именно в регионе общей подвздошной вены происходит наиболее активное образование тромбина.

По данным Phillips D.R., et al. (2001), тромбин обладает свойством активизировать тромбоцитарный интегрин, который в свою очередь инициируют фибриноген и фактор фон Виллебранда для участия в процессах адгезии и агрегации тромбоцитов. Тромбоциты являются легко доступными мишениями для тромбопоэтина, который также интенсивно регулирует процессы агрегации тромбоцитов и активность их гранулярного аппарата, инициированные тромбином (Kojima H., et al., 2001). Для связывания с тромбином тромбоциты имеют на своей поверхности специфический гликопротеидный receptor – (GP) Ib-IX комплекс (Li CQ., et al., 2001). Кроме того, на поверхности тромбоцитов имеется и общий гликопротеидный receptor для тромбина и фактора фон Виллебранда – (GP) Ib/IX/V (Rivera J., et al., 2000). Следует так же отметить, что тромбоциты обычно циркулируют в крови как дисковидные «отдыхающие» клетки, которые становятся критическими

компонентами тромбообразования только после того, как специфические рецепторы на оболочках тромбоцитов взаимодействуют с их лигандами, то есть агонистами (Ofosu F.A., et al., 2000). В тоже время, по данным Sobocinska M.B., et al., (2000), тромбин, взаимодействуя с тромбоцитарным рецептором «F11», осуществляет фосфорилиацию этого рецептора, что в дальнейшем приводит к активизации секреторных гранул тромбоцитов. Активизируя мембранные рецепторы тромбоцитов, тромбин стимулирует фосфатидилинозитол. В свою очередь это ведет к активации цитозольного С++ в тромбоцитах (Elovitz M.A., et al., 2000). Кроме того, взаимодействие тромбина и фактора фон Виллебранда с тромбоцитами вызывает увеличение в тромбоцитах внутриклеточной свободной концентрации ионов Са++, что приводит к иницииации процессов образования тромбоксана А-2 из арахидоновых кислот (Kermode J.C., et al., 1999). Дальнейшее взаимодействие, как тромбина, так и образовавшихся тромбоксанов с тромбоцитами ведет к стимуляции системы кальдомодулина и фос-форилиации тирозина – эндоплазматических белков тромбоцитов, что в конечном счете приводит к вязкому метаморфозу тромбоцитов (Rosskopf D., 1999).

Как мы уже ранее говорили, – синтез и экскреция тромбоксанов происходят в процессе агрегации тромбоцитов. Как же осуществлялся этот процесс в различных сосудистых регионах здоровых людей? Оказалось, что скорость агрегации тромбоцитов на тромбоцитарных агрегаторгаммах, инициированных подпороговой индукцией АДФ, была самой быстрой именно в нативной плазме крови, полученной из общей подвздошной вены, и составляла $0,269 \pm 0,012$ УЕ (рис. 7, 8).

Однако остальные показатели так существенно не отличались по сравнению с аналогичными показателями агрегации крови, забранной из других сосудистых регионов. Иными словами, агрегационные процессы в плазме крови, полученной из подвздошной вены, были далеко не самыми интенсивными, по сравнению с аналогичными

процессами в плазме крови, полученной из других сосудистых регионов. Так, например, максимальная амплитуда агрегации тромбоцитов, на агрегатограммах как с пороговой, так и с подпороговой индукцией АДФ была максимально выражена в плазме крови, полученной из аорты. Кроме того, на тромбоцитарных агрегатограммах, инициированных как пороговой, так и подпороговой индукцией АДФ, записанных с нативной плазмой артериальной крови, регистрировались самые высокие показатели угловых констант, по сравнению с аналогичными показателями тромбоцитарных агрегатограмм, записанных с нативной плазмой, полученной из других сосудистых регионов. В частности, угловая константа на тромбоцитарных агрегатограммах, инициированных подпороговой индукцией АДФ нативной плазмы, полученной из аорты составляла $28,11 \pm 0,8$ градусов, тогда как аналогичная константа на тромбоцитарных агрегатограммах с нативной плазмой изъятой из подвздошной вены составляла только $9,67 \pm 0,4$ градуса, ($P < 0,001$). Одновременно с этим, на тромбоцитарных агрегатограммах инициированных как пороговой, так и подпороговой индукцией АДФ нативной плазмы, взятой из аорты регистрировалась самая низкая степень и самая медленная скорость дезагрегации тромбоцитов, по сравнению с аналогичными показателями тромбоцитарных агрегатограмм, записанных с нативной плазмой, полученной из других сосудистых регионов.

Примечательно, что наряду с вышеописанными процессами повышенного агрегационного ответа тромбоцитов артериальной крови, развивающегося в ответ на воздействие аденоzinифосфата (АДФ), количество тромбоцитарных агрегатов в артериальной крови было самым низким, по сравнению с таковым в крови, полученной из других сосудистых регионов, и составляло всего – $4,23 \pm 0,78\%$ от общего содержания тромбоцитов в артериальном русле. Содержание же тромбоцитов в артериальной крови, в тоже время, было максимальным по сравнению с их содержанием в крови, взятой из других сосудистых регионов, и

достигало $320,1 + (-23,4 \times 10^9)$ в литре крови. Что же следует из выше сказанного? Практически напрашивается только единственный логический вывод – тромбоциты венозной крови, пройдя через легочный регион, повышают свою чувствительность к воздействию аденоzinифосфата. За счет чего это происходит? – за счет увеличения количества или афинности АДФ-зависимых рецепторов тромбоцитов, или за счет других процессов? – ответить на данный вопрос мы не можем. Возможно, мы сможем получить ответ на данный вопрос, рассмотрев состояние противосвертывающей и фибринолитической систем в различных сосудистых регионах практически здоровых людей. Именно это мы и сделаем в следующей главе.

ГЛАВА 3

Состояние активности противосвертывающей и фибринолитической систем в различных сосудистых регионах

При анализе биохимических показателей гемостаза отчетливо выявляется мощный противосвертывающий потенциал артериальной крови. Так в плазме артериальной крови процессы фибринолиза (моделированные на фибриновых пластиках), протекали практически в 2 раза интенсивнее, чем аналогичные процессы в плазме венозной крови, забранной из кубитальной вены. Как известно ферментативный фибринолиз осуществляется за счет ферментной активности плазмина. Примечательно, что именно плазмин активно разрушает гликопротеиды наружной оболочки тромбоцитов (de Haan J., van Oeveren W., 1998). Примечательно, что по полученным нами данным, активность

плазмина в артериальной крови достигала своего пика и превышала аналогичную в плазме крови, забранной из вен верхних и нижних конечностей в 4-6 раз. Там же в артериальной крови регистрировалось максимальное (по сравнению с кровью, полученной из других сосудистых регионов), содержание свободного гепарина. Следует напомнить, что именно гепарин является прямым антагонистом тромбина (Yamanaga K., et al., 2000). Его уровень достигал $0,431 + (-0,021 \times 10^{-2})$ грамм на литр крови. Это было практически на 46% больше, чем в крови, оттекающей от почек (рис. 4). Обсуждая этот факт, необходимо подчеркнуть, что и количество фибриногена и фибриназная активность в артериальной крови, полученной нами у совершенно здоровых людей, были значительно меньшими, нежели в крови, полученной из других сосудистых регионов. Общеизвестно, что фибриноген синтезируется в ретикулоэндотелиальной системе печени. Этот факт был установлен еще в 1953 году Schulz F.H. В то же время, следует описать и другие свойства фибриногена. В тоже время, опираясь на данные Kuhns D.B. и его коллег (2001), можно утверждать, что человеческие нейтрофилы после контакта с фибриногеном значительно увеличивают внутри себя запасы хемоатрактанта нейтрофилов – интерлейкина-8. Кроме того, фибриноген, взаимодействуя с нейтрофилами, по данным тех же авторов, – активизирует увеличение в нейтрофилах мРНК. Примечательно, что тогда же именно эти ученые открыли тот факт, что слияние (соединение) нейтрофилов с фибриногеном и/или с хемотактическим пептидом – fMLP – ведет к изменениям (заменам) в уровнях динамического равновесия (стационарного состояния) мРНК для макрофагального воспалительного белка-1 alpha и 1 beta, и белка хемоатрактанта моноцита 1. Иными словами указанные авторы доказали, что фибриноген может функционировать не только как субстрат в каскаде процессов свертывания, но и как важный исполнительный элемент в процессах формирования иммунного ответа. При-

мечательно, что по данным Judd B.A. и его коллег, опубликованным в 2000 году, – взаимодействие растворимого и иммобилизированного фибриногена с нормальными человеческими или мышевыми тромбоцитами вызывает быструю фосфорилиацию тирозина SLP-76. Кроме того, спайка тромбоцита к фибриногену стимулировала перестройку актина. И, наконец, по данным тех же авторов оказалось, что альфа IIb бета 3 является специфическим рецептором для фибриногена, и то, что данный рецептор расположен непосредственно на поверхности тромбоцита. Взаимодействие растворимого или иммобилизированного фибриногена с нормальными человеческими или мышевыми тромбоцитами вызывает быструю фосфорилиацию тирозина SLP-76. Кроме того, спайка тромбоцита к фибриногену стимулирует перестройку актина, вытяжение filopodial и lamellipodial, и локализацию тирозина в фосфорилированные белки на периферии тромбоцита.

В тоже время, тот уникальный факт, полученный нами, что фибриноген, поступающий с венозной кровью задерживался легкими здорового человека, является достаточно необычным. Этот феномен можно объяснить следующим образом. Так, например, фибриноген, частично оставаясь в легких, может использоваться легочной системой микроциркуляции либо для процессов фибринообразования, либо для процессов комплексообразования, или адсорбироваться на поверхности форменных элементов в виде фибрина. Если это предположение верно, то что же происходит с фибриногеном в самих легких практически здоровых людей? Судя по тому факту, что общая масса продуктов деградации фибриногена-фибрина в артериальной крови или меньше или близка к таковой в крови, полученной из других сосудистых регионов, можно с достаточной степенью достоверности утверждать, что процессы фибринообразования и соответственно ответные процессы фибриноразрушения не занимают главенствующего места в системе микроциркуляции легких, по сравнению с другими региона-

ми организма. В то же время, по результатам наших исследований, становится очевидным тот факт, что процессы комплексообразования фибриногена с гепарином в системе легочной микроциркуляции – наименее выражены, по сравнению с таковыми в крови из других сосудистых регионов. Так в артериальной крови уровень гепарин-фибриногена составлял всего $0,28 \pm 0,008$ грамм/литр. Примечателен еще и тот факт, что в крови, выносимой из легких, в артериальной крови содержание фибриноген-фибронектиновых комплексов равнялось НУЛЮ! То есть, с достаточно большой ответственностью можно утверждать, что процессы комплексообразования фибриногена с другими (изучаемыми нами веществами) либо отсутствуют, либо протекают умеренно в системе легочной микроциркуляции. Таким образом, из трех, выдвинутых нами предположений, остается самое логичное – в системе микроциркуляции легких существенная часть фибриногена адсорбируется на форменных элементах крови.

Следует подчеркнуть тот факт, что в крови, изъятой из печеночных вен, нами обнаружен второй по максимуму уровень содержания гепарина. Первый, самый высокий, уровень содержания, как мы уже говорили, был обнаружен в крови оттекающей от легких. То, что в печени гепарина вырабатывается меньше, чем в легких, также является весьма необычным фактом, так как ранее считалось, что основным местом синтеза гепарина являются тучные клетки печени. Куда же девается гепарин, вырабатываемый в легких и печени, если его уровень в крови, полученной из других сосудистых регионов, был существенно меньше. В частности он используется для комплексообразования с фибриногеном. Этот процесс осуществляется практически во всех сосудистых регионах, но, как мы уже ранее говорили, максимум образования гепарин-фибриногена происходит в системе микроциркуляции нижних конечностей.

В противоположность максимальному синтезу гепарина в легких, образование активаторов плазминогена наиболее активнее происходит в системе микроциркуляции пе-

чени. Его уровень, в частности, превышал в крови, взятой из печеночных вен, аналогичный в артериальной крови на 25% (рис. 9).

Но, как ни странно, именно только в крови, полученной из печеночных вен, выявлялись антиплазмины и ингибиторы активации плазминогена. Примечательно, что согласно данным, полученным в 1999 году Marx N. и его коллегами, эндотелиальные клетки являются главным источником ингибиторов активации плазминогена. Следовательно, источником ингибиторов активации плазминогена в крови, оттекающей из печени, являются в первую очередь эндотелиоциты ее сосудистого русла. Причем, эндотелиальные клетки кроме синтеза, осуществляют процессы транскрипции ингибиторов активации плазминогена (те же авторы). Однако, в 2001 году Chuang J.L. и Schleef R.R. доказали, что и тромбоциты так же экспрессируют в окружающую среду большое количество ингибиторов активации плазминогена. Из этого следует, с учетом наших данных, что именно в микроциркуляторном русле печени (и нигде больше), тромбоциты здоровых людей выделяют в окружающую среду ингибиторы активации плазминогена. В тоже время, согласно данным Castellino F.J., опубликованным в 2001 году, в циркулирующей крови основная часть ингибиторов активации плазминогена ингибируется протеином «С». Примечательно, что кроме своего основного гемостазиологического действия, ингибиторы активации плазминогена обладают свойствами ингибировать апоптоз моноцитов (Ritchie H., Fragoannis A., 2001), и блокировать прямое прикрепление витронектина к интегрину (Wohn K.D., et al., 1999). Из этого следует, что печень является крайне важным органом для сохранения жизнедеятельности моноцитов у практически здоровых людей. Данный факт является еще примечательным и по другим причинам. Так, Hocking D.C. со своими коллегами в 1999 году выяснил, что витронектин блокирует процессы депонирования фибронектина во внеклеточную матрицу. Они же доказали, что депонирование фибронектина во внеклеточную матрицу

является интегрин-зависимым процессом. И, наконец, те же авторы выяснили, что связанный гепарином домен витронектина регулирует депонирование фибронектина во внеклеточную матрицу через изменения в организации цитоскелета актина. Из выше сказанного следует, что печень – как единственный центр в организме здорового человека – синтезируя и экскретируя ингибиторы активации плазминогена, тем самым принимает не только активное участие в процессах гемостаза, но непосредственно участвует в физиологических процессах сохранения целостности внеклеточной матрицы его сосудов.

Кроме того, в крови, полученной из печеночных вен, также регистрировался самый высокий (по сравнению с аналогичным в крови из других сосудистых регионов), уровень фибриназной активности. Этот уровень активности XIII-го фактора свертывания крови (фибриназы) достигал в крови из печеночных вен $145,6 \pm 7,58$ УЕ. Ранее считалось, что антиплазмины и ингибиторы активации плазминогена появляются в циркулирующей крови только вследствие разрушения сосудов и тканей. Это явление наблюдалось, например, при активном ревматическом процессе, прогрессирующем атеросклерозе, инфаркте миокарда, тромбозах мозговых сосудов и выраженной сердечной недостаточности (Балуда В.П., 1965, Айзенберг А.А., Грицюк А.И., 1967, Пасторова В.Е., Панченко В.М., 1967, Люсов В.А., 1975, Воробьева Э.В., Воробьев В.Б., 1996, Бровкович Э.Д. и др., 1999). Однако, в единичных случаях (примерно в двух случаях из 35-ти, по данным Грицюк А.И., 1969), и у здоровых людей могут выявляться антиплазмины и ингибиторы активации плазминогена. Судя по полученным нами фактам, у практически здоровых людей действительно имеется в норме физиологический синтез антиплазминов и ингибиторов активации плазминогена. Вновь следует отметить, что именно по нашим данным единственным местом физиологического синтеза антиплазминов и ингибиторов активации плазминогена у практически здоровых людей является печень! Какова же причина

такой региональной обособленности синтеза антиплазминов и ингибиторов активации плазминогена? По нашему мнению, причиной этого явления может быть поступление избыточных масс плазмина, приносимых в печень с артериальной кровью. Дело в том, что именно плазмин, взаимодействуя со своими специфическими рецепторами сосудистой стенки через целый ряд взаимосвязанных биохимических и гуморальных реакций, приводит к активизации симпатического отдела нервной системы. Следствием этого каскада разнообразных реакций является освобождение и экскреция в окружающую среду (следует в первую очередь читать – кровь), тканевых антиплазминов и тканевых ингибиторов активации плазминогена. Данний процесс был неоднократно доказан в экспериментах, в частности – Калишевской Т.М. с соавторами (1989). В то же время, несмотря на описанные выше факты, то явление, что у практически здоровых людей плазмин инициирует синтез антиплазминов и ингибиторов активации плазминогена, конкретно только в печеночном регионе, по нашей информации является впервые выявленными нами. Эти факты, соответственно, можно вполне обоснованно считать приоритетными данными.

Данное явление, тем более интересно, что многочисленные экспериментальные и морфологические исследования, проведенные зарубежными и отечественными учеными, показали наличие выше указанных факторов гемостаза в структурах большинства сосудов, органов и тканей здоровых людей (Astrup T., Sterndorf I., 1956, Buluk K., Malofiejew M., 1963, Worowski S., Niewiarowski S., Prokopowicz Y., 1964., Prokopowicz Y., 1964, Сократов Н.В., 1975). Изучая параллельно плазминовую активность, активность активаторов плазминогена и интенсивность процессов лизиса эуглобулинового сгустка, можно с большой степенью достоверности судить, о плазминогеновой активности исследуемой крови. При таком сравнительном анализе мы выявили, что даже при самом быстром времени лизиса эуглобулинового сгустка крови, изъятой из вен рук

и ног, в тех же самых пробах фиксируется самый низкий уровень плазмина и активаторов плазминогена.

Иными словами, активаторы плазминогена в крови, изъятой из этих сосудистых регионов, полностью истрачиваются в процессе образования плазминогена. Данное положение подтверждает факт их резкого снижения, при одновременной интенсификации эзглобулинового фибринолиза. В тоже время падение уровня содержания плазмина отчетливо указывало на то явление, что он – плазмин – после осуществленных процессов его собственного ферментативного образования из плазминогена, самым активным образом тратился. Для чего же тратился образовавшийся плазмин? По нашим данным он тратился для осуществления процесса разрушения постоянно образующихся фибриновых структур.

Таким образом, многочисленные экспериментальные данные (из отечественных авторов – это несомненно данные, полученные Кузником Б.И. с соавторами, еще в 1971 году), многократно свидетельствующие о процессах непрерывного фибринообразования и, одновременно с этим, процессов непрерывного фибриноразрушения в сосудистых регионах самых различных животных, получили достоверное подтверждение. Это подтверждение, в отличие от большинства исследований, касается не животных, а что самое главное – практически здоровых людей! Данный процесс, по нашим данным, осуществляется в физиологических условиях преимущественно в системе микроциркуляции тканей верхних и нижних конечностей. В отличие от указанного явления, в крови, забранной из печени, нами зарегистрирован самый вялый процесс лизиса эзглобулинового сгустка плазмы крови. Данная, на первый взгляд, аномалия, компенсировалась достаточно высокой инициацией активности активаторов плазминогена и непосредственно – плазмина. Примечательно, что активаторы плазминогена интенсивно вовлечены в процессы регулирования печеночной регенерации, активируя фактор роста гепатоцитов

HGF (Shimizu M., et al., 2001). Таким образом, активаторы плазминогена, с одной стороны, являются важнейшими компонентами фибринолитической системы, а, с другой стороны, синтезируясь в большом количестве в печеночном регионе, запрограммированы на физиологическую защиту печени от различных повреждений. Итак, вновь следует подчеркнуть, что кровь, оттекающая от печени, несет в себе информацию об интенсивном процессе ферментативного образования одного из самых главных физиологических фибринолитиков. Данный фермент – плазмин. Однако, в системе печеночной микроциркуляции здорового человека, плазмин физиологически не успевает использоваться для дальнейших ферментных процессов. Причиной этого является отсутствие значительного запаса субстратов для его ферментных реакций. Другими словами, кровь, выносимая из печени здоровых людей, не отражает активных процессов внутрипеченочного фибринообразования. Иными словами, если в данном паренхиматозном регионе нет активного процесса тромбо- или фибринообразования, то плазмин не имеет возможности взаимодействия со своими взаимозависимыми субстанциями, которые он должен разрушать. Несмотря на все выше изложенное, печень регулярно секретирует плазмин и его предшественников в систему нижней полой вены. Спрашивается, для чего это происходит? Возможно, печень здоровых людей поставляет этот фермент для осуществления коррекции гемостаза в других регионах. Так это или нет, мы постараемся обсудить далее при рассмотрении агонистических и антагонистических взаимодействий между факторами гемостаза, в различных регионах здорового человека. Данному вопросу и будет посвящена следующая глава. И так как ранее мы, в основном, анализировали трансрегионарный гемостаз, на основе полученных результатов исследований крови из аорты, ее магистральных ветвей, кубитальных и подвздошных вен, почечных и печеночных вен, а также «капиллярной крови», полученной при пункции подушечек

пальцев рук, то в следующей главе мы собираемся обсудить следующие факты. А именно, результаты исследований гемостаза еще одного сосудистого региона практически здорового человека – региона ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИИ.

ГЛАВА 4

Роль сердца и легких в процессах трансрегионарного гемостазиологического обмена у практически здоровых людей

Сравнивая тромбоэластографические графики, записанные с кровью, забранной из исследуемых нами венозных сосудов, с аналогичными графиками тромбоэластограмм, записанных с венозной кровью, забранной из легочной артерии, мы выявили следующие факты. На тромбоэластограммах с цельной кровью из легочной артерии отмечается замедление течения всех трех фаз свертывания, причем наиболее резко замедляется течение первой и третьей фазы. Иными словами мы получили факты указывающие на то, что кровь, пройдя через систему микроциркуляции сердца, значительно теряет свои коагуляционные свойства. Причем в первую очередь в системе микроциркуляции сердца осуществляются процессы ингибиции тромбина и протромбина, а также снижается (несколько в меньшей степени), образование тромбина. Эти и последующие заключения построены на сравнениях показателей гемостаза венозной крови, притекающей к сердцу, с аналогичными показателями гемостаза венозной крови, взятой из легочной артерии. Так как венозная кровь, изъятая из легочной артерии, содержит в себе не только венозную кровь, притекающую к правому сердцу, но венозную кровь, поступающую из самого сердца через венечный синус в правое

предсердие, и соответственно, через правый желудочек в легочную артерию.

Кроме выше описанных изменений тромбоэластографических показателей следует отметить значительное снижение динамических свойств сгустка цельной крови, взятой из легочной артерии. После изъятия эритроцитов из проб, течение первой фазы свертывания перестает практически отличаться на тромбоэластограммах с нативной плазмой, забранной из периферических венозных регионов и из легочной артерии. Иными словами, логично предположить, что инактивация тромбопластина в системе микроциркуляции сердца связана с повышением антитромбопластиновой функции тромбоцитов. Известно, что в физиологических условиях эритроциты достаточно активно экскретируют через свою мембрану внутриэритроцитарный тромбопластин (Ашкинази И.Я., 1971), который в дальнейшем быстро ингибируется гепарином, антитромбином-3 и простациклином. Примечательно, что уровень антитромбина-3 и гепарина в крови из легочной артерии существенно не отличался от такового в крови из периферических венозных сосудов. Следовательно, можно с достаточной степенью уверенности предположить, что сердце в физиологических условиях достаточно активно синтезирует простациклин, который, стабилизируя эритроцитарные мембранны, не позволяет эритроцитам экскретировать тромбопластин. Примечательно, что, пройдя через легкие эритроциты артериальной крови, вновь начинают активно экскретировать тромбопластин (скорость течения 1 фазы свертывания цельной артериальной крови ускоряется в 1,34 раза по сравнению с таковой скоростью свертывания крови, изъятой из легочной артерии). Таким образом, можно полагать, что наибольшей простациклин-продуцирующей способностью в физиологических условиях обладает сердце, но не ткани конечностей, и соответственно не печень или почки. Спрашивается, почему же вновь повышается проницаемость эритроцитарных мембран? Ведь общизвестно, что продолжительность жизни простациклина состав-

ляет около 30 секунд. Таким образом, стабилизация мембран эритроцитов в системе микроциркуляции сердца носит достаточно кратковременный характер. От стабильности эритроцитарных мембран и их дзета-потенциала зависит эритцитарное взаимодействие с фибриногеном. Причем, как стабильность мембран эритроцитов, так и эритроцитарный дзета-потенциал напрямую зависят от активности простатиклина (Кузник Б.И. и др., 1971, Кузник Б.И., Скипетров В.П., 1977, Вершин В.Н. и др., 1982, Kovacs I.B., O'Grady J., 1984, Smith E.F., et.al, 1984). То есть, чем больше простатиклиновая активность, тем меньше образуется эритроцитарных агрегатов. В крови из легочной артерии эритроцитарных агрегатов регистрируется на 17–25% меньше, чем в крови из периферических венозных регионов. Таким образом, мы вновь получили еще одно косвенное подтверждение о высокой простатиклиновой активности сердца.

Другим интересным, на наш взгляд, фактом является то, что практически весь фибриноген беспрепятственно проходит сквозь микроциркуляторную систему сердца (не увеличиваясь и не уменьшаясь в своем количестве). Однако, до 18% фибриногена остается в легких. Там же в системе легочной микроциркуляции в физиологических условиях происходит метаболизм фибриногена. Причем, осуществляется не столько его разрушение, сколько образование из фибриногена фибрин-мономеров, которые там же, в системе легочной микроциркуляции, активно полимеризуются в фибрин. На чем основана данная посылка? Впервых, в сердце образуется максимальное количество фибриназы ($214,0 \pm 2,58$ ЕД.), по сравнению с аналогичным количеством в венозной крови, изъятой из периферических вен, и из аорты. Как известно, именно от активности фибриназы зависит полимеризация фибрин-мономеров (Левитан Б.Н. и др., 1988). Во-вторых, из легких с артериальной кровью выносится больше всего продуктов деградации фибрина-фибриногена ($0,23 \pm 0,011$ грамм/литр), по сравнению с их содержанием в крови, взятой из других сосудис-

тых регионов. Однако, начало фибринообразования все-таки осуществляется внутри сердца. Это утверждение основано на том, что количество продуктов деградации фибрина-фибриногена в крови из легочной артерии лишь немного меньше, чем в артериальной крови – $0,22 \pm 0,033$ грамм/литр. Однако, разница между этими показателями не достоверна.

Кроме того, именно в крови, взятой из легочной артерии, обнаруживается максимальное содержание бета-фибриногена – $1,758 \pm 0,098$ грамм/литр. Бета-фибриноген является одним из самых достоверных маркеров внутрисосудистого фибринообразования (Бышевский А.Ш., 1984, Дубяга А.Н. и др., 1985). То есть именно в сердце, в физиологических условиях начинается процесс внутрисосудистого свертывания, который продолжается в легких. Там же, в легких, значительная часть полимеризованных молекул фибрина разрушается, на что указывало повышение в артериальной крови не только продуктов деградации фибрина-фибриногена, но и их фрагментов «Д», появляющихся в процессе разрушения фибрина (Тимошенко Л.И., 1976).

С чем же связаны процессы активизации и возникновения фибринообразования в микроциркуляторной системе сердца? Первым нашим предположением было то, что сердце во время своей работы из-за микротравм эндотелия выделяет в проходящую через него кровь собственный тромбопластин, содержащийся в большом количестве в его клетках (Иванов Е.П., 1983). Однако, никакого физиологического травматизма в норме не происходит. Мы еще раз подчеркиваем, что тромбопластин не только не повышался в крови из легочной артерии, но, напротив, его количество там достоверно снижалось (причины этого мы разбирали ранее). Таким образом данное предположение отпало. Следующей мыслью было предположение об активизации тромбоцитарных рецепторов к тромбиновой акцепции. Однако, как мы указывали ранее, сердце активно вырабатывает простатиклин, который блокирует тром-

биновые рецепторы кровяных пластинок. И действительно чувствительность тромбоцитов к тромбину практически не отличалась в нативной плазме крови, полученной из легочной артерии и из аорты. Следовательно, нам пришлось искать другое объяснение причинам активизации процессов фибринообразования в микроциркуляторной системе сердца. Оказалось, что в процессе своей работы сердце выделяет в протекающую через него кровь значительное количество антиплазминов ($17,0 \pm 0,675$ мм) и ингибиторов активации плазминогена ($7,25 \pm 0,726$ мм). Примечательно, что в физиологических условиях нигде, ни в одном другом сосудистом регионе (за исключением вен печени, где определилось минимальнейшие количества этих факторов), мы не обнаруживали этих мощнейших ингибиторов плазминовой системы.

В то же время, по данным Syrovets T. и его коллег, опубликованных в 2001 году, плазмин стимулирует экспрессию противовоспалительных цитокинов макрофагами. При этом, весьма интересен и тот факт, что плазмин активирует работу матричных металлопротеиназ (Santala A., et al., 1999), обеспечивающих разрушение, в том числе и уже погибших, в результате апоптоза разнообразных клеток. Как известно плазмин лишает тромбин возможности связываться с молекулами фибриногена и осуществлять их полимеризацию (Грицок А.И., 1969). Антиплазмины и ингибиторы активации плазминогена лишают плазмин этой возможности (тот же автор). То есть блокирование плазмина способствует активизации фибринообразования внутри системы микроциркуляции сердца. О том, что антиплазмины и ингибиторы активации плазминогена блокировали в системе сердечной микроциркуляции плазминовую систему, говорило полное отсутствие в крови из легочной артерии активаторов плазминогена. В то же время, количество этих факторов в крови, взятой из других сосудов, колебалось от $21,1 \pm 0,8$ мм до $40,0 \pm 2,1$ мм. Таким образом, избыточное внутрисердечное образование антиплазминов и ингибиторов активации плазминогена, подавляет

плазминовую активность. Это соответственно способствует увеличению генерации тромбина и далее – началу фибринообразования в микроциркуляторной системе сердца.

В физиологических условиях тромбин активно взаимодействует с тромбомодулином эндотелиоцитов (Лукьяненко Е.Ф. и др., 1988), что приводит к активизации синтеза простациклина в эндотелии (Федоров Н.А. и др., 1990). Простациклин является самым сильным антагонистом тромбоксанов (Cannon P.J., 1984).

Анализируя активность тромбоксанов у обследуемых нами здоровых людей, мы обнаружили, что в крови, изъятой из легочной артерии, она гораздо ниже таковой, нежели в крови из других сосудистых регионов. Например, эта активность была в 2 раза меньше чем в венозной крови взятой из печеночной и подвздошной вен. Как известно (Cannon P.J., 1984), в результате арахидонового каскада образуются лейкотриены, тромбоксаны и простациклин. Все эти факторы являются короткоживущими веществами и быстро разрушаются с образованием гидроперекисей липидов. У обследованных нами здоровых людей в крови из легочной артерии регистрировалось максимальное количество гидроперекисей липидов – $3,782 \pm 0,376$ диеновых коньюгатов. В то же время в крови, забранной из других сосудистых регионов, содержание этих веществ было существенно меньшим. От $0,686 \pm 0,011$ диеновых коньюгатов в артериальной крови, до – $2,267 \pm 0,031$ диеновых коньюгатов в крови из печеночной вены. Так как активность тромбоксанов в легочной артерии была минимальной, то причинами большого содержания гидроперекисей могли быть: либо повышенная липоксигеназная активность (то есть – синтез лейкотриенов), либо увеличение содержания простациклина. Как известно 5-липоксигеназный путь угнетает процессы дезагрегации тромбоцитов (Dembinska-Kiec A. et.al., 1984). Однако, у обследованных нами людей в крови из легочной артерии не только не угнетались процессы дезагрегации тромбоцитов, но напротив степень дезагрегации существенно превышала таковую по сравнению

с аналогичной в крови, взятой из любого другого сосудистого региона. Таким образом, мы вновь получили подтверждение того, что в ответ на появление активного тромбина, эндотелий сосудистого русла сердца начинает в физиологических условиях активно (активнее всех других регионов), синтезировать простациклин.

Примечательно, пройдя через легкие, тромбоциты вновь обретают способность к интенсивному вязкому метаморфозу. В данной ситуации следует проанализировать и следующий литературный факт. Так, по мнению Tzima E. и его коллег (2000 год), только поступление ионов Ca^{++} в тромбоциты ведет к изменению в их цитоскелете, и к многочисленным другим реакциям, в конечном итоге приводящим к вязкому метаморфозу кровяных пластинок. На возможный факт вязкого метаморфоза тромбоцитов, согласно полученным нами данным, указывали следующие цифры изменения максимальной амплитуды (Ma) на тромбоцитарных агрегатограммах, инициированных пороговой индукцией аденоzinифосфата. При этом следует отметить, что уровень Ma достигал своего пика $74,21 \pm 3,75$ УЕ. В тоже время, этот же показатель на аналогичных агрегатограммах с нативной плазмой, взятой из легочной артерии, составлял абсолютный минимум – $38,167 \pm 0,504$ УЕ ($P < 0,001$). Одновременно с этим, в артериальной крови резко падает содержание гидроперикисей липидов – в 5,5 раза по сравнению с аналогичным содержанием в крови из легочной артерии. Такое падение содержания гидроперикисей липидов свидетельствует о том, что в легочном регионе подавляются все компоненты арахидонового каскада, за исключением циклоксигеназного пути синтеза тромбоксанов. Действительно, именно в артериальной крови активность тромбоксанов возрастает на 38,4%, по сравнению с таковой в крови из легочной артерии. Такое возрастание тромбоксановой активности можно объяснить лишь избытком тромбина в артериальной крови, который появляется в ней, поступая из сердца, (из венечного синуса через правые отделы сердца, и соответственно через

легкое). В тоже время, при нашем обсуждении разнообразных свойств тромбина, как уникального фермента системы свертывания человека, хотелось бы указать на ряд его своеобразных свойств. Так, например, по данным, опубликованным в 2000 году Maragoudakis M.E. и его коллеги – Tsopanoglou N.E., тромбин является мощнейшим фактором инициирующим ангиогенез. И что примечательно, ранее в 1999 году Maceu M.J. с соавторами сообщили мировой научной общественности тот факт, что тромбин непосредственно активизирует синтез селектина в тромбоцитах. Тогда же, в 1999 году, исследования Fernandez-Patron C. и его сотрудников показали, что тромбин вызывает как интенсивную, так и весьма быструю секрецию матричных металлопротеиназ, инициирующих протеолитический распад сосудистой внеклеточной матрицы. И так как жизнь простациклина составляет примерно 30 секунд, то образовавшийся в сердце данный простагландин быстро разрушается в легких. В тоже время, долгоживущий тромбин начинает активизировать тромбоцитарные рецепторы и соответственно инициировать синтез и экскрецию тромбоксанов из кровяных пластинок.

Учитывая разницу содержания гидроперикисей липидов в поступающей и вытекающей из легких крови, можно полагать, что их основная масса (83,7%) разрушается в легочном регионе. Такое активное разрушение, должно было оказывать какое-то воздействие на процессы насыщения гемоглобина эритроцитов кислородом. Именно поэтому нам представилось интересным изучить процесс насыщения кислородом гемоглобина в крови, изъятой из исследуемых нами сосудистых регионов. Кроме того, мы посчитали необходимым параллельно изучить содержание миоглобина в крови из этих же сосудистых регионов, так как миоглобин обладает в 6 раз большим сродством к кислороду, нежели гемоглобин (Черняев А.Л., 1988). Кроме того, так как продукты перекисного окисления липидов, в огромном количестве поступающие в легкие, должны активно разрушать клеточные мембранны, в том числе и мем-

бранны эритроцитов (Скакун Н.П., 1987), то нам интересно было изучить содержание в крови, взятой из обследуемых регионов, циклических нуклеотидов. Этот интерес основан на том факте, что циклический аденоzinмонофосфат (цАМФ) стабилизирует мембранны, а циклический гуанидинмонофосфат (цГМФ) их дестабилизирует (Коровкин Б.Ф. и др., 1988). Примечательно, что такие эндотелиальные факторы, как простациклин, так и оксид азота в физиологических условиях обладают свойством увеличивать внутриклеточное содержание цГМФ (Duran M.J., et. al., 2001, Geiger J., 2001). В то же время, такое биологически активное вещество как брадикинин вызывает уменьшение концентрации цГМФ как в мезангимальных, так и в гладкомышечных клетках (Alric C., et. al., 1999). По данным Woods M. и его коллег, опубликованным в 2000 году, оказалось, что цАМФ является ключевым регулятором многочисленных физиологических процессов. При этом, по сведениям тех же авторов, активатором аденилатцилазы, ферmenta, необходимого для синтеза цАМФ, является цитокин. Цитокин, согласно тем же источникам, является и важнейшим активатором фосфодиэстеразы. И что самое интересное, по данным указанных авторов, воздействие цитокина на человеческие сосудистые клетки в гладкомышечных структурах приводит к увеличению в них экспрессии мРНК и резкому повышению синтеза самого мощного вазоконстриктора – эндотелина-1.

Ранее считалось, что миоглобин – гемовый протеин – содержится только в клетках скелетных и сердечной мышц (Панфилов Ю.А. и др., 1988). Однако, мы обнаружили, что в венозной крови рук его практически содержится в 5 раз меньше, чем в венозной крови почек и печени, и в 2 раза меньше, чем в артериальной крови здоровых людей. То есть печень и почки активно поставляют миоглобин в легочный регион, где до 50% его разрушается. В то же время, насыщение кислородом гемоглобина в почках, протекает интенсивнее, чем в руках ($92,514 \pm 4,8\%$ и $70,841 \pm 2,142\%$ соответственно, $P < 0,01$). И все это проис-

ходит при том, что количество миоглобина обнаруживается в кубитальной венозной крови, в 5 раз меньше, нежели в венозной крови оттекающей от почек. Значит конкурентность между гемоглобином и миоглобином практически не зависит от количества миоглобина. Следовательно, ответ на данный вопрос необходимо искать в большей или меньшей стабильности эритроцитарных мембран.

Оказалось, что показатель цАМФ/цГМФ (отражающий реальное соотношение циклических нуклеотидов в пробе), был самым высоким в артериальной крови – $5,9 \pm 0,1$ УЕ, в то время как в крови, взятой из печеночных вен, он составлял всего – $1,878 \pm 0,127$ УЕ ($P < 0,001$). То есть процесс активного поступления избытка гидроперекисей липидов в легкие ни коим образом не влиял на ригидность эритроцитарных мембран, защищенных активным синтезом циклического аденоzinмонофосфата. Данная ситуация позволяет в физиологических условиях гемоглобину эритроцитов активно конкурировать с миоглобином за кислород. При этом насыщаемость гемоглобина кислородом в эритроцитах артериальной крови достигает $99,8 \pm 0,9\%$. Данный уровень является абсолютным максимумом по сравнению с аналогичными показателями в крови, взятой из остальных сосудистых регионов.

Примечательно, что верхние и нижние конечности гораздо активнее потребляют кислород, нежели почки и печень. Так, в тканях рук остается 29% кислорода, приносимого с гемоглобином эритроцитов артериальной крови. Причем, парциальное давление кислорода в крови, оттекающей от рук, падает в 3 раза по сравнению с аналогичным уровнем в артериальной крови. При этом кровь, оттекающая от конечностей, несет в себе значительное количество «избыточных» кислот (соответственно: – $2,915 \pm 0,254$ молей и $-3,1 \pm 0,4$ молей, в венозной крови рук и ног). В то же время общий уровень pH не отличается от нормы в крови, взятой из других сосудистых регионов. Интенсивное поглощение тканями конечностей кислорода для осуществления их метаболизма и наличие

кислотных продуктов этого метаболизма, даже в физиологических условиях, создает предпосылки для развития ацидоза в этих венозных регионах. Для ликвидации избытка кислот подключается метаболизм легких. Данное явление приводит к тому, что уровень «избыточных» кислот двукратно снижается в артериальной крови. Однако, полностью ликвидируют «избыток» только почки, которые не только ликвидируют данные продукты, но и поставляются своей венозной кровью небольшое количество оснований ($0,643 \pm 0,011$ молей). Таким образом, в физиологических условиях почки являются главным регулятором кислотно-щелочного равновесия организма.

ГЛАВА 5

Состояние трансрегионарного взаимодействия систем гемостаза у практически здоровых людей

Как было ранее сказано, мы обнаружили в крови, оттекающей от легких, гораздо большее содержание свободного гепарина, нежели в крови, оттекающей от печени, (рис. № 10). Так как это входило вразрез с ранее опубликованными материалами, свидетельствующими о главенствующей роли печени в синтезе гепарина в организме, то решили проверить полученные нами биохимические факты. Для уточнения мест локализации наиболее активных процессов синтеза гепарина, мы провели исследование гистологических препаратов печени и легких 11 случайно погибших людей. Все они были при жизни практически здоровы. Известно, что одной из важнейших функций тучных клеток, является продукция гепарина (Forsberg E., et al., 1999, Cavalcante M.C., et. al., 2000). Однако имеются данные и о других важнейших свойствах данных клеток.

Так, согласно результатам исследований, опубликованным в 1999 году Smith T.J. и Parikh S.J., активизированные тучные клетки стимулируют фибробласты для синтеза простагландинов Е-2. И в том же 1999 году Wills F.L. со своими коллегами опубликовали информацию о том, что гамма-интерферон является важнейшим регулирующим цитокином, участвующим в процессах пролиферации тучных клеток, а также в их дифференциации, в процессах адгезии между собой и в инициации экскреции тучными клетками самых различных медиаторов.

Эти же авторы доказали роль гамма-интерферона в индукции гена активизирующего в тучных клетках синтез оксида азота. И, наконец, они же доказали, что оксид азота играет в тучных клетках аутокринную роль, стимулируя при этом деятельность интегрина. В 2000 году Kelley J.L. со своими сотрудниками опубликовали данные о том, что тучные клетки секретируют и противовоспалительные цитокины, которые в свою очередь – стимулируют внедрение моноцитов и лимфоцитов в поврежденную воспалением сосудистую ткань. При этом внедрении в сосудистую ткань моноциты превращаются в «пенистые клетки», что является в патофизиологических условиях одним из пусковых механизмов атерогенеза. Для выявления гепариноцитов (тучных клеток), и их гепарино-продуцирующей активности гистологические препараты красились гематоксилин-эозином, основным коричневым, толuidиновым синим по Хочкису, пиронином по Браше, по ван-Гизону, Вейгерту, Футу. Подсчитывалось количество тучных клеток, их размеры, форма, наличие препегарина, активного внутриклеточного и внеклеточного гепарина. Оказалось, что в легких преобладают средние размеры тучных клеток (60,2%), преимущественно овальной формы (80,6%). Количество гепариноцитов в 10 полях зрения при увеличении 7 x 40 составляет $300,0 \pm 15,0$ штук. Во всех, обнаруженных в легких, тучных клетках регистрировался активный синтез препегарина, гепарина и процессы активной экскреции гепарина. Наряду с этим, в печени так же преоблада-

ли средние размеры гепариноцитов (64,8%), чаще всего в виде овальной формы (94,3%), однако их количество было существенно меньшим, чем в легких, и составляло всего – $260,0 \pm 16,0$ штук в 10 полях зрения при увеличении 7×40 . Все обнаруженные в печени тучные клетки активно синтезировали прегепарин, гепарин и также активно экскретировали гепарин. Однако, следует отметить очень важную, на наш взгляд, закономерность – в отростчатых гепариноцитах процессы экскреции гепарина происходили гораздо интенсивнее, нежели в овальных клетках. В тоже время тучных клеток с отростками встречалось в легких в 3 раза больше, нежели в печени. Таким образом, полученные нами результаты гистологических исследований, полностью соответствовали данным биохимических исследований содержания в крови активного гепарина, которого было больше в артериальной крови, нежели в крови из печеночной вены. Следовательно, действительно у здорового человека главным органом, синтезирующим и экскретирующем свободный активный гепарин, являются легкие.

Приступая к рассмотрению реологических свойств крови, полученной из разных сосудистых регионов, следует вспомнить, что текучесть крови определяется многочисленными факторами. А именно, количеством макромолекулярных белков, в первую очередь фибриногена и его дериватов, а также количеством тромбоцитов и их агрегатов, и далее – количеством эритроцитарных агрегатов. В процессе индукции агрегации общеизвестна огромная роль тромбоксанов и продуктов перекисного окисления арахидоновых кислот. Именно поэтому мы рассматриваем реологические свойства крови с учетом содержания фибриногена, активности тромбоксанов и интенсивности перекисного окисления липидов. Возвращаясь к вопросу о содержании фибриногена в различных сосудистых регионах, мы хотим напомнить тот факт, что в физиологическом месте синтеза фибриногена – в печени – количество данного фактора свертывания крови было относительно небольшим. Если говорить более жестко, то меньше, чем в

печеночных венах, содержание фибриногена было только в артериальной крови. Иными словами, несмотря на общеизвестный факт о синтезе фибриногена в печени, печень, как ни парадоксально, поставляет в свои вены небольшое количество этого главного коагулянта. И если в артериальной крови низкий уровень этого фактора свертывания мог быть объяснен его катаболизмом в легочном регионе (что было установлено еще в 1955 году Веселкиным П.Н. с соавторами), то с чем же был связан его относительно низкий уровень в крови печеночных вен?

Известно, что тромбоциты обладают способностью транспортировать на своей поверхности молекулы фибриногена (Кузник Б.И., Скипетров В.П., 1977), имея для этого специфические рецепторы. Причем, адсорбция фибриногена тромбоцитами значительно повышает агрегатообразование кровяных пластинок (Иванов Е.П., 1983). Оказалось, что количество тромбоцитов в крови из печеночных вен существенно больше, чем в крови из вен конечностей и почек. Тромбоциты транспортируют фибриноген из печени в общее венозное русло, откуда, попадая в легкие, он катаболизируется. Причем, катаболизм фибриногена достигает одной трети от его общего количества в сутки (Бояджиян Х.П., 1985). Кровяные пластинки, отдавая фибриноген в капиллярах легких, должны при этом значительно терять свою способность к агрегации. Именно данное явление и регистрировалось нами в артериальной крови практически здоровых людей. Там, в артериальной крови количество спонтанных тромбоцитарных агрегатов составляло всего лишь $4,23 \pm 0,78\%$. Таким образом, нами были подтверждены ранее опубликованные экспериментальные данные о способности тромбоцитов адсорбировать молекулы фибриногена, транспортировать их в легкие, где и происходит катаболизм данного коагулянта в физиологических условиях.

Ряд интересных закономерностей был выявлен нами при изучении скрытых способностей тромбоцитов к агрегации. Это явление проявляется в процессе индукции агре-

гации кровяных пластинок различными агентами. Воздействие активными веществами на тромбоциты позволяет моделировать процессы, происходящие непосредственно в организме. Индуцирование агрегации тромбоцитов аденоzinифосфатом является наиболее адекватным методом оценки функциональной активности кровяных пластинок (Манухин И.Б., 1984). Примечательно, что аденоzinифосфат является не только инициатором процесса агрегации тромбоцитов, но одновременно с этим, в циркулирующей крови практически здоровых людей, он инициирует локальные скопления кровяных пластинок (Foster C.J., et al., 2001). Аденоzinифосфат, кроме своего активного участия в процессах гемокоагуляции, обладает еще и многими другими интересными свойствами, так, например, он выполняет функцию паракринового медиатора (Cusack N.J., Hourani S.M., 2000). Итак, возвращаясь к результатам собственных исследований, следует отметить, что процессы структурной и хронометрической агрегации тромбоцитов, при индукции пороговыми дозами аденоzinифосфата (АДФ), в артериальной крови протекали наиболее выражено и быстрее, чем в крови из других сосудистых регионов. Так в частности, максимальная амплитуда на тромбоцитарных агрегатограммах плазмы из аорты была на 48% больше таковой в плазме из печеночных вен. Структурная и хронометрическая дезагрегация в плазме из артериального региона протекала значительно слабее и медленнее, нежели в крови из других регионов. Например, скорость дезагрегации тромбоцитов на артериальных агрегатограммах была в 2 раза медленнее, чем аналогичная в крови из вен конечностей, и почти в 3 раза медленнее, чем таковая в крови, изъятой из вен почек.

Анализируя тромбоцитарные агрегатограммы индуцированные подпороговыми дозами АДФ, следует отметить в целом такие же тенденции со стороны структурной и хронометрической агрегации и дезагрегации в пробах с артериальной кровью. Так, максимальная амплитуда на артериальных агрегатограммах была в 3 раза выше, чем на

венозных печеночных агрегатограммах (при подпороговой индукции аденоzinифосфатом). Причем, следует отметить, что максимальная амплитуда при индукции подпороговыми дозами АДФ в аортальной плазме была больше не только таковой в плазме из других сосудов, но и больше по сравнению с максимальной амплитудой агрегации, вызванной пороговыми дозами АДФ в плазме из других (не артериальных), сосудистых регионов. Следует напомнить, что пороговая индукция осуществляется количеством аденоzinифосфата в 4 раза превышающим подпороговую дозу. То есть, в артериальной крови процессы тромбоцитарного экзоцитоза протекают несравненно интенсивнее, чем в крови из других сосудистых регионов, и для запуска этих процессов достаточно минимума аденоzinифосфата. Следовательно, тромбоциты, пройдя сквозь легочную область, отдавая фибриноген, освобождают свои специфические рецепторы для индукторов агрегации. Это положение подтверждается еще и тем фактом, что в артериальной крови соотношение цАМФ/ цГМФ зарегистрировано нами в три раза меньшим, нежели в венозной кубитальной крови. Иными словами, такая высокая готовность тромбоцитов к агрегации, инициированной аденоzinифосфатом, не может быть объяснена предшествующей активизацией внутритеомбоцитарного арахидонового каскада. И действительно, тромбоксановая активность в артериальных тромбоцитах была существенно меньше таковой в тромбоцитах крови из подвздошной вены и крови из печеночной вены. Таким образом, все выше сказанное свидетельствует только об одном – о факте освобождения тромбоцитарных рецепторов от фибриногена, и о факте высокой специфичности этих освобожденных тромбоцитарных рецепторов к акцепции аденоzinифосфата.

Весьма существенным, на наш взгляд, являлась минимальная агрегативная готовность тромбоцитов к АДФ в печеночной венозной плазме, где и структурная и хронометрическая агрегация протекали медленнее и слабее таковых в плазме из других сосудистых регионов. Однако,

активность гидроперикисей липидов в этом же венозном печеночном регионе была значительной – $2,267 \pm 0,031$ дневовых коньюгата. То есть, именно в печеночных венах интенсивно осуществляется арахидоновый каскад, результатом которого должно являться или появление тромбоксанов, или простациклина, или лейкотриенов. Тромбоксаны и простациклин являются прямыми антагонистами, поэтому существенное увеличение активности тромбоксанов в крови из печеночной вены ($43,48 \pm 4,55$ УЕ), несомненно, должно было вызывать повышение, в качестве физиологического ответа, простациклиновой активности. Данное ответное повышение активности простациклина отчетливо проявлялось в виде буквального падения уровня максимальной амплитуды тромбоцитарной агрегации ($15,41 \pm 0,37$ УЕ), на агрегатограммах с нативной печеночной венозной плазмой, инициированных пороговыми дозами аденоzinинфосфата. Этот минимум являлся абсолютным в сравнении с аналогичными показателями агрегатограмм, записанных с нативной плазмой, взятой из других сосудистых регионов, и индуцированных как пороговыми, так и подпороговыми дозами АДФ. В тоже время, пусковые механизмы агрегации тромбоцитов избирательно подавляются продуктом липоксигеназного пути – лейкотриеном «С»-4 (Ronicke K., Forster W., 1984). И действительно, угловая константа тромбоцитарных агрегатограмм, записанных с нативной плазмой, взятой из печеночных вен, при индукции пороговыми дозами АДФ, была крайне низкой ($12,03 \pm 0,5$ градусов). Из выше сказанного следует, что причиной мощнейшего образования гидроперикисей липидов в крови из печеночных вен, было активное образование в печени как тромбоксанов, так и простациклина и лейкотриенов. При этом следует отметить тот факт, что лейкотриены являются мощными бронхоконстрикторами. Главный путь действия лейкотриенов установлен через CysLT-1-рецептор на гладких мышцах дыхательных путей. В то же время, примечательно, что лейкотриены вызывают гиперреактивность дыхательных путей через их взаимодействие, как с

эозинофилами, так и с нервами дыхательной системы легких (Barnes N.C., Smith L.J., 1999). Примечательно, что в том же 1999 году Bugum R.S. с коллегами опубликовал и тот факт, что лейкотриен B-4 является мощным хемоатрактантом. Лейкотриены синтезируются из арахидоновых кислот. Они являются мощными медиаторами процессов воспаления и осуществляют реакции гиперчувствительности немедленного типа (Haribabu B., et. al., 2000).

Однако вновь вернемся к результатам наших собственных исследований. При этом отдельно хотелось подчеркнуть тот факт, что в крови из печеночных вен наблюдалось максимальное образование эритроцитарных агрегатов ($1,44 \pm 0,04$ ЕД.). Причиной агрегатного состояния эритроцитов является адсорбция на их наружных мембранах молекул фибриногена и его дериватов, с их дальнейшей полимеризацией. В результате таковой адсорбции из-за контрактильных свойств образующегося фибрина и из-за резкого падения дзета-потенциала эритроцитов, эти клетки крови притягиваются и буквально склеиваются друг с другом, теряя свою антикинетическую активность (Кузник Б.И. и др., 1971, Вершин В.Н. и др., 1982). Все это непосредственно зависит от активизации липидного обмена в эритроцитарных мембранах, в процессе которого образуются гидроперикисы липидов (Ашкинази И.Я., Ярошевский А.Я., 1964). Данный процесс адсорбции дериватов фибриногена, должен сопровождаться их изъятием из плазмы в эритроцитарную фракцию. И действительно, по нашим данным в венозной печеночной крови отмечался самый низкий уровень бета-фибриногена ($0,788 \pm 0,009$ грамм/литр), фибрин-мономеров ($0,72 \pm 0,01$ грамм/литр), растворимого фибрина ($0,484 \pm 0,005$ грамм/литр) и «общих» продуктов деградации фибрина-фибриногена ($0,134 \pm 0,005$ грамм/литр).

Следует отметить, что агрегированные эритроциты в печеночных венах не играют роль постоянных транспортеров дериватов фибриногена, так как после их выхода из легких в артериальной крови уровень дериватов фибриногена

гена значительно не меняется. Напротив, эритроциты с деформированными при агрегации мембранами теряют свою жизнестойкость и разрушаются в процессе естественного катаболизма в легочном регионе. Это положение подтверждается резким снижением количества эритроцитарных агрегатов, после их выхода из легких – до $1,25 \pm 0,08$ ЕД. Это был абсолютно низкий уровень, по сравнению с аналогичным в крови из других сосудистых регионов.

Как указывалось нами ранее, в процессах свертывания крови и в осуществлении ее агрегатного состояния, большую роль играют дериваты фибриногена и продукты деградации фибрина-фибриногена. В крови из общей подвздошной вены нами зарегистрирован максимальный уровень содержания дериватов и комплексов (с гепарином), молекул фибриногена. Однако, диаметрально противоположная тенденция наблюдалась нами в крови, изъятой из печеночных вен. Иными словами, в системе микроциркуляции нижних конечностей процессы формирования фибрина протекают наиболее активно. Наличие четких признаков интенсивной полимеризации фибрина, обусловленной максимальной чувствительностью крови общей подвздошной вены к тромбиновому воздействию (тромбиновое время в крови из этого сосудистого региона самое короткое – $19,0 \pm 0,6$ секунд), еще раз подтверждало факт наибольшей чувствительности региона нижних конечностей к тромбообразованию у вполне здоровых людей. Вероятно, этим и объясняется такая частота тромбозов вен нижних конечностей при самых разнообразных заболеваниях.

Активная полимеризация фибрина в процессе отщепления от молекул фибриногена продуктов деградации фибрина-фибриногена (ПДФ) подтверждалась наличием самого большого содержания в крови общей подвздошной вены – низкомолекулярных ПДФ (с молекулярным весом от 15 до 35 тысяч дальтон). Напротив, в крови из печеночной вены количество низкомолекулярных ПДФ было в 12 раз меньше, чем в венозной кубитальной крови. Там

же в крови печеночной вены меньше всего определялось количество фрагментов «E» ПДФ, свидетелей образования рыхлого фибрина. Примечательно, что количество фрагментов «E» ПДФ в венозной крови печени было в 30 раз! меньшим, чем в крови из общей подвздошной вены, и в 14 раз меньшим, чем в крови, забранной из кубитальных вен. Таким образом, мощная простациклиновая активность в венозной крови печени активнейшим образом препятствует развитию в системе печеночной микроциркуляции процессов образования рыхлого фибрина.

Как известно, появление фибронектина в циркулирующей крови, в частности связано с непосредственным тромбиновым взаимодействием с кровяными пластинками. В результате данного рецепторного взаимодействия из альфа-гранул тромбоцитов в окружающую среду выбрасываются фибронектины (Титов В.Н., Санфирова В.М., 1984). Фибронектины самым разнообразным образом влияют на гемостаз. Так, например, они активно связывают не только тромбофильические факторы, но и факторы неферментативного фибринолиза. В то же время, по данным Can-ning M.O., и его соавторов, опубликованным в 2001 году, фибронектины, прилипая к моноцитам, приводят с одной стороны к их активизации, а с другой стороны активно меняют их цитоскелет. В том же 2001 году Wu M.Y., с коллегами опубликовали тот факт, что предварительная обработка венул очищенным человеческим фибронектином и витронектином предотвратила реакцию гиперпроницаемости этих сосудов. Несколько ранее – в 1999 году, Nocking D.C. со своими коллегами известил научную общественность о том, что взаимодействие клеток с внеклеточным гликопротеидом – витронектином, – ингибирует матричную экспрессию местообитания и депонирование фибронектинов. В 2000 году Herouy Y. со своими соавторами опубликовали информацию, согласно которой ангиогенез на поверхности ангиогенных кровеносных сосудов требует присутствия в среде интегрина, который в свою

очередь является витронектиновым рецептором. Интегрин осуществляет процессы склеивания клеток между собой. Примечательно, что эта функция интегрина активно регулируется факторами роста, цитокинами и хемокинами (Kinashi T., et. al., 1999). В свою очередь хемокины регулируют процессы регенерации, взаимодействуя с нейтрофилами, макрофагами, лимфоцитами и тучными клетками. Одновременно с этим хемокины вносят свой активный вклад в процессы регулирования эпителизации, перимоделирования тканей и ангиогенеза (Gillitzer R., Goebeler M., 2001). Примечательно также, что фибронектины в комплексе с гепарином подавляют способность интегрина «склеивать» различные клетки с межклеточной матрицей (Watanabe K., et. al., 2000). Однако вернемся к нашим собственным данным. Так, согласно результатам наших собственных исследований оказалось, что в артериальной крови обследуемых нами практически здоровых людей активность фибронектинов, обладающих потенцией к комплексообразованию с факторами неферментативного фибринолиза, была крайне низкой. На это явление указывало, как низкое содержание этого типа фибронектинов, так и минимальное количество их комплексов с гепарин-фибриногеном (всего лишь $0,421 \pm 0,053$ грамм/литр). Однако, количество фибронектинов, обладающих потенцией к комплексообразованию с молекулами фибрин-мономеров, в артериальной крови было весьма значительным – $2,099 \pm 0,015$ грамм/литр. Данный факт указывал на активизацию фибронектинов артериальной крови для блокирования эффектов полимеризации фибрин-мономерных молекул. В тоже время, несмотря на то, что уровень этих специализированных к фибрин-мономерам молекул фибронектинов был высоким, их комплексообразующая активность в артериальной крови была низкой. Об этом можно судить при сравнении количества указанных фибронектинов с их комплексами (количество фибронектин-фибрин-мономерных комплексов составляло $2,964 \pm 0,02$ грамм/литр).

Как показали наши исследования дериваты фибрино-

гена и продукты деградации фибрина-фибриногена (ПДФ), могут участвовать не только в механизмах свертывания крови, но и в реакциях разрушения фибриновых структур. Причем, данные ферментные реакции могут происходить как с использованием плазмина, так и без этого механизма. Кроме того, те же факторы так называемого неферментативного фибринолиза (например, гепарин-фибриноген), по нашим данным, могут также осуществлять разрушение фибриновых структур, как с использованием плазмина, так и без него. Сравнивая показатели данной фибринолитической активности в крови, притекающей и оттекающей от легких, мы выявили следующие факты. Гепарин-фибриноген обладает плазмин-зависимой активностью как в крови, притекающей к легким, так и в крови, оттекающей от них. Однако, его плазмин-зависимая активность после прохождения крови через легочный регион, умеренно снижается. Также снижается его плазмин-независимая активность, после прохождения через микроциркуляторное русло легких. Возможно, это связано с тем, что в легочном регионе данный фактор частично используется для внутрирегионарного процесса разрушения фибриновых структур. Данное положение основано на ранее обсуждаемом нами факте – в артериальной крови регистрировался максимальный уровень продуктов деградации фибрина-фибриногена ($0,23 \pm 0,011$ грамм/литр). Комплексы фибронектина с гепарин-фибриногеном так же обладают (по нашим данным), фибринолитической активностью. Опять же она может опосредоваться как через плазмин, так и может осуществляться без него. Оказалось, что данные комплексы фибронектина с гепарин-фибриногеном, пройдя через легочный регион, так же меняют свою активность. Причем, плазмин-зависимая активность этих комплексов полностью исчезает, а плазмин-независимая активность падает в 2,5 раза. Иными словами, указанные комплексы также принимают участие в лизисе внутрилегочных фибриновых структур. Однако, следует отметить, что в отличие от самих молекул гепарин-фибриногена, их комплексы с фибронек-

тинами лизируют фибриновые структуры в системе легочной микроциркуляции многократно сильнее. Примечательно, что в легочном регионе и сами фибронектины (вне своих комплексов), так же занимаются активнейшим лизирующим процессом. Это явление осуществляется, в частности, фибронектинами, обладающими потенцией к комплексообразованию с гепарин-фибриногеном. Причем данные фибронектины лизируют фибриновые структуры преимущественно через участие в этом процессе плазмина. Уровень таких фибронектинов, после прохождения их через легкие падает до НУЛЯ.

Фибрин-мономеры так же в процессе своего прохождения через легкие участвуют в этих литических процессах опосредованно через плазмин и самостоятельно. Однако, эта их активность не очень значительна. Примечательно, что комплексы фибронектинов с фибрин-мономерами практически не участвуют в этом литическом процессе. Зато, пройдя через систему легочной микроциркуляции, они резко проявляют свою фибринолитическую активность в артериальной крови. Причем, эта активность осуществляется преимущественно через плазминовый путь. Аналогичная метаморфоза происходит и с фибронектинами, обладающими потенцией комплексообразования с фибрин-мономерами. После прохождения данных фибронектинов через легкие, у них появляется крайне выраженная фибринолитическая активность, опять же в основном опосредованная через активизацию плазмина.

Молекулы растворимого фибрина также принимают участие в процессах внутрилегочного фибрино-разрушения. Эти реакции осуществляются как с использованием плазмина, так и без онного. Однако, интенсивность этих процессов небольшая. В то же время происходят достаточно необычные реакции в процессах внутрилегочного фибриноразрушения, с участием комплексов фибронектинов с растворимым фибрином. Так, эти комплексы, с одной стороны, активизируют в легких плазмин, зависимый фибринолиз, но, с другой стороны, не участвуют в плазмин независимом фибринолизе. Зато пройдя через легкие, активно проявляют свою плазмин-независимую литическую активность. Аналогичные изменения в литической активности происходят и с фибронектинами, обладающими потенцией к комплексообразованию с молекулами растворимого фибринова.

Продукты деградации фибрина-фибриногена практически не участвуют в процессах внутрилегочного фибринолиза. Пройдя через легочный регион, они умеренно проявляют свою как плазмин-зависимую, так и плазмин-независимую активность в артериальной крови. Однако, комплексы фибронектинов с ПДФ самым активным образом участвуют в фибринолизе, как с использованием плазмина, так и без него. Это участие настолько интенсивно, что вся их плазмин-зависимая и плазмин-независимая активность полностью расходуется в системе легочной микроциркуляции. Аналогичная ситуация наблюдалась со стороны фибронектинов, обладающих потенцией к комплексообразованию с «общими» ПДФ – их активность полностью воспринималась легочным регионом, и в крови, выносимой из легких, равнялась НУЛЮ.

ГЛАВА 6

Роль витамина «К» в механизмах саморегуляции системы гемостаза в физиологических условиях

Современной истории пристального изучения гемостаза уже более 100 лет, и ее основоположником по праву считается отечественный ученый А.Шмидт. И уже с тех пор считается, что гемостаз является одной из самых первых систем саморегуляции, возникших при формировании организмов. То есть ГЕМОСТАЗ – это базовая система ГО-

МЕОСТАЗА. А нам с вами известно, что гомеостаз одна из самых ведущих (если не самая главная), систем сохранения жизни у высших и низших животных.

Давно доказано, что в физиологических условиях у высших млекопитающих, включая и человека, любые физические и эмоциональные нагрузки вызывают травматизацию эндотелиальных клеток сосудов. Такая физиологическая травматизация может затрагивать как отдельные эндотелиальные клетки, так и их значительные группы.

Самый простой и самый частый пример физиологической травматизации эндотелиальных клеток сосудов, – это воздействие на сосудистую стенку сосуда избыточного перфузационного давления крови, возникающего при любой физической работе, или при ходьбе, или при беге. Аналогичным повреждающим моментом обладают любые эмоциональные всплески: как-то позитивные, так и негативные. Механизмы повреждения эндотелиальных мембран весьма различаются, как при физических нагрузках, так и при стрессах. Однако, эффект повреждения эндотелия сосудов практически всегда один и тот же. Этот феномен повреждения заключается в частичном или полном разрушении мембран эндотелиальной клетки, или целой группы клеток. В тоже время, у любого (даже здорового) человека ничего не вечно, с точки зрения состояния его любой структуры, как на уровне низкомолекулярных соединений, так и на уровне всего макроорганизма. Все рождается, развивается, стареет и умирает. То же самое касается и эндотелиальных сосудистых клеток – они то же, в конце концов, умирают и замещаются новыми (в молодом организме), или совершенно другими образованиями (в организме зрелого или стареющего человека).

Суммируя все выше сказанное можно и нужно подчеркнуть, что в любом возрасте – от грудного, до самого старческого, – эндотелиальные клетки травмируются. И данная травматизация есть явление физиологическое (Балуда В.П. и др., 1980). Следует напомнить, что эндотелий сосудов человека в норме отталкивает от себя почти все

то, что находится в циркулирующей крови. Это связано с тем, что почти все элементы крови (в физиологических условиях), имеют к эндотелию отрицательно настроенный отталкивающий потенциал. Это так называемый дзета-потенциал (Савушкин А.В., 1973, Шестаков В.А. и др., 1973, Kovacs I.B., O'Grady J., 1984, Сигал В.Л., 1988). Аналогичный отталкивающий потенциал почти ко всем компонентам крови имеет и сам эндотелий. Таким образом, в условиях «идеальной нормы» кровь как бы не соприкасается с сосудом. Повторяем, имеется в виду ситуация «идеальной нормы». Но жизнь не является нормой. В процессе жизнедеятельности, опять же любой компонент крови «рождается», «развивается», «стареет» и «умирает». И соответственно в процессе этой инволюции любой компонент крови меняет свой отталкивающий потенциал на нулевой, или на положительный. То есть, на потенциал контакта с другими компонентами крови и/или с эндотелием.

Что же происходит при повреждении эндотелиальных клеток макро или микрососудов? В большинстве тканей организма человека (включая и эндотелиоциты), содержатся так называемые тканевые факторы гемостаза (Кудряшов Б.А., 1975). Так вот, при повреждении мембранны эндотелиальной клетки, данные факторы практически «вымываются» в сосудистое русло. Одним из таких факторов является тканевой тромбопластин. Данный фактор гемостаза является весьма активным ферментом свертывающей системы крови. Он отщепляет фрагменты другого белка – протромбина. Указанный белок является проферментом свободно и беспрепятственно циркулирующим в кровеносной системе здорового человека. Местом синтеза этого вещества является печень (Кудряшов Б.А., 1975). Синтезируется протромбин из витамина «К». К настоящему времени известно несколько форм витамина «К». Однако в гемостазиологическом аспекте нас будет интересовать только одна форма – витамин «К»-2. Дело в том, что именно из витамина «К»-2 в печени здорового человека синтезируется протромбин.

Итак, как мы уже ранее говорили, вымываемый из поврежденных эндотелиоцитов тромбопластин отщепляет от профермента протромбина его фрагменты, в результате чего освобождаются активные центры этого вещества, и протромбин преобразуется в один из самых активнейших ферментов системы гемостаза – в тромбин. Часть тромбина уносится от места повреждения током крови, но его значительное количество начинает осуществлять свои ферментные реакции непосредственно над зонами поврежденных эндотелиоцитов (рис. 11).

При этом тромбин принимает непосредственное участие и в процессах репарации поврежденных тканей (Sternberg J., et. al., 2000). Одновременно с этим тромбин активизирует продукцию эндотелиального фактора роста (Sarker K.P., et. al., 1999). Данные реакции осуществляются весьма быстро и эффективно. Тромбин начинает отщеплять концевые части молекул фибриногена. В обычной ситуации фибриногеновые молекулы совершенно свободно проходят над эндотелиоцитами. Однако, отщепив боковые димеры фибриногеновых молекул, тромбин превращает фибриноген в совершенно новое своеобразное вещество. Описывая свойства этого вещества, мы попытаемся использовать следующую аналогию. Представьте себе 100 тюбиков запечатанного клея. В этом закрытом состоянии сам клей ничего к себе не приклейт, и соответственно эти тюбики между собою не склеятся. Но попробуйте все эти 100 тюбиков клея выложить бок о бок рядом друг с другом и быстро отрезать (гемостазиологическая реакция продолжается считанные секунды), их боковые части. Излившись из тюбиков клей не только свяжет липкой массой все тюбики и, скорее всего, перепачкает ваши руки. Соответственно, если клей быстродействующий, то вы почувствуете, как ваша кожа непосредственно под kleem начнет стягиваться. Те же процессы происходят над эндотелиоцитами. Данная аналогия является вполне уместной, так как тромбин практически за несколько секунд разру-

шает сотни и тысячи молекул фибриногена, «отрезая» их неактивные части и освобождая активные центры акцепции. Эти центры обеспечивают превращение десятков и даже тысяч молекул фибриногена в гигантские молекулы очень липкого субстрата – в так называемый растворимый фибрин. Этот растворимый фибрин буквально заклеивает поврежденные зоны эндотелиоцитов, а при необходимости – поврежденные зоны сосудов и даже стягивает макрораневые поверхности. Стягивающие свойства растворимого фибрина обусловлены его высокой контрактильностью. Данный феномен осуществляется при самом непосредственном действии так называемого фибрин-стабилизирующего фактора (Чазов Е.И., 1966, Кудряшов Б.А., 1975, Балуда В.П. и др., 1980, Иванов Е.П., 1983, Block H.U., et.al., 1984. Фермилен Ж., Ферстрате М., 1984, Bale M.D., Mosher D.F., 1985, Викторов А.В. и др., 1988, Лукьяненко Е.Ф. и др., 1988, Струкова С.М. и др., 1991)

Таким образом, витамин «К»-2, с точки зрения гемостазиологии, нужен организму здорового человека для синтеза протромбина и далее для образования тромбина. Без тромбина человек погиб бы от обычных физиологических повреждений эндотелиоцитов сосудов, от кровотечений. Причем, эта гибель наступила бы без всяких внешних вмешательств, как то травмы или операции, и так далее.

Но роль витамина «К» не исчерпывается всем выше перечисленным. Для того чтобы понять его другие функции, вновь вернемся к ситуации с поврежденными эндотелиоцитами, из которых выделяется в протекающую кровь тканевой тромбопластин. Этот фермент большей своей частью уносится током крови от мест повреждения. И соответственно, в совершенно других сосудистых структурах так же осуществляет ферментное превращение протромбина в тромбин. Таким образом, очень агрессивный фермент – тромбин образуется не только над зоной поврежденных эндотелиоцитов, но и в других сосудах, не имеющих поврежденных поверхностей. Иными словами в са-

мых различных сосудистых регионах совершенно здорового человека, диссеминированно и постоянно циркулируют молекулы тромбина. В процессе своего движения они осуществляют процессы ферментативного превращения молекул фибриногена в растворимый фибрин. Который, опять же диссеминированно, в любых сосудистых регионах превращается в нерастворимый фибрин – в виде фибриновых нитей или сгустков. Иногда, по нашим данным, встречаются даже фибриновые тромбы, в отдельных капиллярах или венулах, у практически здоровых людей. Данные феномены, согласно результатам наших исследований, чаще всего осуществляются в системе микроциркуляции нижних конечностей. Однако если бы данному постоянному процессу периферического микротромбирования ничего не противодействовало, то в конечном итоге мы все бы очень быстро погибли, так как локальный микротромбоз без противодействий, очень быстро переходит в макротромбозы. Но у здоровых людей ничего подобного не происходит. Почему? Дело в том, что образовавшийся в кровяном русле тромбин используется не только для полимеризации гигантских молекул фибринова.

Этот фермент имеет еще большое количество высокоспецифических рецепторов в различных участках нашего организма. Процессы взаимодействия тромбина с указанными рецепторами чаще всего являются необратимыми, то есть рецепторы, захватывая тромбин, используют его в дальнейшем для образования в своих везикулах разнообразных веществ.

Какова же структура этих рецепторов, захватывающих тромбин, и что же происходит в результате данной акцепции? Так как нас интересует на данный момент система гемостаза, то далее речь пойдет именно о тех рецепторных образованиях, которые участвуют в гемостазиологических реакциях. Одной из самых важных тромбинакцептирующих систем организма является тромбин-тромбомодулин-протеин-«С» система (Струкова С.М. и др., 1986, 1987, Лукьяненко Е.Ф. и др., 1988, Любина Л.В., Тлешу-

ков И.К., 1989, Башков Г.В., 1990, Струкова С.М. и др., 1991, Коган А.Е., Струкова С.М., 1991). Основной механизм ее действия представлен на рис. 12.

Избыточный, свободно циркулирующий тромбин, взаимодействуя с тромбин-тромбомодулин-протеин-«С»-системой, акцептирует практически в любом регионе сосудистого русла здорового человека, свободные – «активные» молекулы тромбина. После «захвата» молекул тромбина тромбин-тромбомодулин-протеин-«С»-система инициирует синтез простациклина, а также других противосвертывающих факторов – в первую очередь – гепарина и антитромбина-3. Кроме того, данная система (после акцепции тромбина), стимулирует синтез факторов ферментативного и неферментативного фибринолиза, а также активизирует процессы положительного хемотаксиса лейкоцитов, их фагоцитарную активность и стимулирует деятельность фибронектиновой системы (предыдущие авторы).

Данные фрагменты деятельности тромбин-тромбомодулин-протеин-«С»-системы проиллюстрированы на рис. 13.

Активизация всех выше перечисленных механизмов не только предотвращает дальнейшие реакции тромбина, но и осуществляет разрушение фибриновых образований в системе микроциркуляции здорового человека, вызывает заживление поврежденных поверхностей эндотелия, и даже в случаях образования фибриновых тромбов вызывает реканализацию микрососудов. Одновременно с этим, образующийся, в результате активизации тромбин-тромбомодулин-протеин-«С»-системы, гепарин осуществляет активное ингибиование избыточных молекул тромбина. Это происходит из-за того, что гепарин с антитромбином-3 и тромбин являются прямыми антагонистами, ингибиющими друг друга (Макацария А.Д., Нестерова С.Г., 1982, Мазырко А.В., 1983, Баркаган З.С., 1983, Какабанда А., и др., 1984, Башков Г.В., 1990).

Примечательно, что тромбин-тромбомодулин-протеин-«С»-система интимно зависит от уровня витамина «К» в организме, так как фрагмент этой системы – протеин-«С»

синтезируется из пресловутого витамина «К» (Yin Z.F., et. al., 2000). Таким образом, витамин «К» используется организмом как для синтеза тромбина, так и для его ингибирования с помощью тромбин-тромбомодулин-протеин-«С»-системы. Иными словами витамины «К» и тромбин-тромбомодулин-протеин-«С»-системе принадлежит одна из ведущих гемостазиологических ролей в организме здорового человека – роль ключевых регуляторов гемостаза, поддерживающих его в состоянии оптимального баланса.

ГЛАВА 7

Трансрегионарная взаиморегуляция системы гемостаза организма здорового человека

Суммируя все изложенное в предыдущих главах, мы попытались схематично представить основные процессы взаимодействия и саморегуляции системы гемостаза, как одного из ведущих механизмов, обеспечивающих сохранность ГОМЕОСТАЗА организма здорового человека (рис. 14).

«В организме здоровых людей и животных кровеносные сосуды постоянно подвергаются физиологической травматизации и разрывам вследствие движения, растяжения или компрессии тканей, резких изменений внутрисосудистого давления и других причин» (Балуда В.П. и др., 1980), что провоцирует локальные процессы активации свертывания. Как мы уже ранее указывали, наиболее активно стимуляция процессов свертывания происходит в конечностях (более всего в системе микроциркуляции ног). Это возможно связано с преимущественной нагрузкой на данные сосудистые регионы в процессе обычной жизнеде-

ятельности (например, во время ходьбы). Местная активизация синтеза тромбина вызывает процессы интенсификации агрегации тромбоцитов, явления синтеза и экскреции тромбоксанов, процессы полимеризации фибриногена (Чазов Е.И., 1966, Куряшов Б.А., 1975, Балуда В.П. и др., 1980, Иванов Е.П., 1983, Block H.U. et.al., 1984, Викторов А.В. и др., 1988, Лукьяненко Е.Ф., и др., 1988, Струкова С.М и др., 1991). Причем, следует отметить, что тромбин является не только ключевым фактором системы свертывания, но и обладает другими многочисленными, а иногда и достаточно необычными свойствами. В частности, имеются данные о том, что тромбин расщепляет активированные протеазой рецепторы в нейронах и астроцитах, активно участвуя при этом в жизнедеятельности нервной системы человека (Corvera C.U., et. al., 1999). В свою очередь и нервная система активнейшим образом взаимодействует с системой гемостаза. Так, например, производимый мозгом нейротрофический фактор, отвечающий за нейронное развитие и процессы синаптической пластичности, стимулирует экспрессию активатора плазминогена в нейронах (Fiumelli H., et. al., 1999). Однако вновь вернемся к основной гемостазиологической роли тромбина. Так, в процессе тромбиновой полимеризации фибриногена образуется растворимый фибрин-«S» (Балуда В.П. и др., 1980). Одновременно с перечисленными реакциями, тромбин взаимодействует не только с тромбин-тромбомодулин-протеин-«С»-системой (активизируя синтез антитромбина-3 и гепарина), но и непосредственно с поверхностью тучных клеток. Внутри наружных мембран тучных клеток расположены высокоафинные специфические к тромбину рецепторы. После акцепции тромбина этими рецепторами гепариноцитов, внутри тучных клеток начинается активный синтез, а затем и экскреция гепарина (Струкова С.М. и др., 1987, Любина Л.В., Тлепшуков И.К., 1989, Башков Г.В., 1990, Струкова С.М. и др., 1991). Судя по нашим биохимическим и гистохимическим данным максимальное количество гепарина синтезируется в легких, и несколько меньше

ше в печени. Так что можно полагать, что именно в данных органах в физиологических условиях имеется наибольшее число рецепторов к тромбиновому воздействию с тучными клетками и с тромбомодулин-протеин-«С»-системой, обеспечивающих синтез гепарина.

Как известно, антитромбин-3 образует с тромбином полностью неактивный (в ферментном плане), комплекс, и эта реакция значительно ускоряется в присутствии гепарина (Макацария А.Д., Нестерова С.Г., 1982, Баркаган З.С., 1983, Мазырко А.В., 1983, Какабанда А. и др., 1984, Башков Г.В., 1990). Опираясь на это свойство антитромбина-3 и гепарина (необратимо связывать тромбин), можно предположить, что основным местом осуществления данной реакции является сосудистый регион печени, а также (несколько в меньшей степени), система микроциркуляции легких и почек. Данное положение основано на том, что на тромбоэластограммах, записанных с бестромбоцитарной плазмой, забранной из печеночной вены (то есть, плазмой, лишенной клеточного воздействия на процессы тромбинообразования), показатель «*t/k*», отражающий наличие активного тромбина, был абсолютно минимальным, в том числе и по сравнению с таковым на тромбоэластограммах, записанных с бестромбоцитарной плазмой, изъятой из венозных сосудов конечностей.

Кроме указанных ранее путей взаимодействия тромбина с тромбин-тромбомодулин-протеин-«С»-системой, в физиологических условиях имеется еще один путь данного взаимодействия. Этот путь опосредуется за счет наличия комплекса белка «S» с протеином «C» на фосфолипидной поверхности клеток, и ведет к угнетению синтеза проакцептерина (V-го фактора свертывания крови) и антигемофильного глобулина (VIII-го фактора свертывания крови). Угнетение синтеза проакцептерина и антигемофильного глобулина в свою очередь блокирует синтез тромбина. Кроме того, данный путь ведет к активизации синтеза активаторов плазминогена (Коган А.Е., Струкова С.М., 1989). Известно, что V фактор свертывания крови (Ас-глобулин),

синтезируется только в печени и осуществляет превращение протромбина в тромбин, Иными словами проакцептерин непосредственно участвует в реализации 2-й фазы свертывания крови (Балуда В.П. и др., 1980, Иванов Е.П., 1983). Приняв во внимание указанные факты, вновь обратимся к показателям гемостаза обследованных нами здоровых людей. Как видно на ранее проиллюстрированных графиках бестромбоцитарных тромбоэластограмм, опубликованных в ГЛАВЕ 2 (рисунки 1 и 2), самая продолжительная фаза свертывания бестромбоцитарной плазмы была зафиксирована с пробами, изъятыми из печеночной вены. Соответственно, показатель «*k*», отражающий скорость течения второй фазы процессов свертывания, в бестромбоцитарной плазме из печеночной вены был самым большим – $75,0 \pm 3,4$ мм. Следует напомнить, что термин «бестромбоцитарная плазма» обозначает плазму, лишенную не только тромбоцитов, но вообще всех форменных элементов крови. Одновременно с этими результатами, именно в венозной печеночной крови, мы обнаружили наибольшее (по сравнению с таковым в крови из других сосудистых регионов), содержание активаторов плазминогена. То есть скорее всего в печени содержится наибольшее количество тромбин-тромбомодулин-протеин-«С»-рецепторов, сопряженных с белком «S», которые, с одной стороны, обеспечивают интенсивность процесса подавления синтеза тромбина, а, с другой стороны, отвечают за выраженную синтеза активаторов плазминогена.

Появление свободных активаторов плазминогена в циркулирующей крови запускает ферментативный процесс образования плазмина (Грицюк А.И., 1969). Данный процесс, согласно полученных нами данных, наиболее активно осуществляется в легочном регионе. Под влиянием плазмина в фибрине (и реже в фибриногене), происходит разрушение аргинин-глициновых связей, что ведет к образованию продуктов деградации фибрин-фибриногенового разрушения достаточно активно осуществляются

в физиологических условиях во всех сосудистых регионах людей, но по нашим данным они наиболее выражены в системе микроциркуляции легких. Примечательно, что низкомолекулярные продукты деградации фибрин-фибриногена (ПДФ: 1 и 2), – так называемые фибринопептиды, образуются согласно результатам наших исследований практически во всех сосудистых регионах. Причем, больше всего ПДФ: 1 и 2 образуются в сосудистом регионе верхних конечностей, где их содержание соответственно составляет $1,044 \pm 0,035$ и $2,619 + (-0,087 \times 10^{-2})$ грамм на литр крови. В тоже время их количество, выносимое с артериальной кровью из легких, равняется НУЛЮ! Таким образом, можно достоверно полагать, что фибринопептиды избирательно адсорбируются легочными структурами для определенных целей. Для чего же осуществляются данные процессы в легких? Экспериментально показано, что фибринопептиды являются активными стимуляторами синтеза гепарина (Борисова Т.А. и др., 1973). Скорее всего, полное потребление фибринопептидов легкими здоровых людей связано с механизмом их необратимого рецепторного взаимодействия, с аппаратами, стимулирующими синтез пульмонального гепарина. На нашей схеме (рис. 13), показано, что не только плазмин, но и тромбин отщепляют от молекул фибриногена фибринопептиды, за счет разрыва аргинин-глициновых пептидных связей данного фактора свертывания крови (Кудряшов Б.А., 1975). Следовательно, оба ведущих фактора как свертывающей, так и фибринолитической систем крови, в физиологических условиях являются активными биохимическими стимуляторами синтеза гепарина в легких. И как мы уже ранее сказали, этот синтез осуществляется рецепторно-опосредовано через фибринопептиды.

Следует так же обратить внимание читателя на то, что в процессе разрушения фибрина (или в меньшей степени – фибриногена), во всех сосудистых регионах здорового человека достаточно активно образуются фраг-

менты «Е» ПДФ. Данные продукты деградации фибрин-фибриногена были зафиксированы нами при разгонке во время гельэлектрофареза в виде 5, 6, 7, и 8-й субфракций. Так вот, количество этих субфракций фрагментов ПДФ типа «Е» обнаруживалось нами в венозной печеночной крови в 10 – 36 раз меньше, чем в крови, изъятой из других сосудистых регионов. Из этого следует тот факт, что основная масса продуктов деградации фибрин-фибриногена типа «Е» адсорбируется печенью. Какова же причина данной адсорбции? Как известно, фрагменты ПДФ типа «Е» являются не только прямыми ингибиторами тромбина, но они одновременно с этим активно блокируют синтез тромбопластина тканями организма. В тоже время, без участия тромбопластина невозможен процесс преобразования молекул протромбина в активный тромбин (Тимошенко Л.И., 1976). Сопоставляя факт адсорбции печенью продуктов деградации фибрин-фибриногена типа «Е», с самым низким (по сравнению с аналогичным в крови из других сосудистых регионов), показателем интенсивности образования тромбина ($\langle t/k \rangle$), и с самым низким уровнем показателя тромбодинамического потенциала на бестромбоцитарных тромбоэластограммах записанных с плазмой, полученной из печеночной вены, можно сделать следующий вывод. Фрагменты продуктов деградации фибрин-фибриногена типа «Е» избирательно взаимодействуют с эндотелием печеночных сосудов. В эндотелии сосудов в физиологических условиях содержится значительная часть «тканевого» тромбопластина (Иванов Е.П., 1983). Взаимодействуя с эндотелием печеночных сосудов ПДФ-«Е» резко блокируют синтез тромбопластина эндотелиоцитами и его экспрессию в венозную печеночную кровь. Таким образом, осуществляется еще один механизм регуляции тромбообразования в организме здорового человека.

Как мы уже говорили ранее, активизация свертывания в физиологических условиях обязательно ведет к запуску противодействующих механизмов, в частности к активизации синтеза плазмина. В то же время для того, чтобы

плазмин не повреждал эндотелий, и не разрушал сосуды и ткани, включаются соответствующие механизмы коррекции синтеза фибринолизина. В частности, одним из факторов, достаточно активно переводящих плазмин (фибринолизин), в неактивное состояние является антитромбин-3 (Макацария А.Д., Нестерова С.Г., 1982, Белоусов Ю.Б., 1986). Наряду с этим, избыточный синтез плазмина (на фоне микроповреждений сосудов здорового человека), является непосредственным стимулятором для активного синтеза антиплазминов и ингибиторов активации плазминогена (Балуда В.П., 1965). Как мы уже описывали ранее, единственным органом в физиологических условиях, реагирующим у здорового человека на наличие в циркулирующей крови активного свободного плазмина, является печень. Напомним, что эта ответная корректирующая реакция заключается в активизации синтеза антиплазминов и ингибиторов активации плазминогена в системе печеночной микроциркуляции. В тоже время, синтезируемые печенью ингибиторы активации плазминогена, взаимодействуют с активированным протеином «С». Протеин «С» преимущественно синтезируется в печени из витамина «К» (Benzakour O., Kanthou C., 2000). Ранее мы уже говорили, что данная активизация протеина «С» происходит вследствие взаимодействия тромбина с тромбомодулином. Тромбомодулин является рецептором тромбина расположенным на поверхности эндотелиоцитов (Obama H., et. al., 1999). Одновременно с этим, тромбомодулин является кофактором протеина «С», взаимодействуя с которым он переводит его в активное состояние (Matsuyama T., et. al., 2000). Следствием перечисленных выше процессов является интенсификация синтеза активаторов плазминогена (Коган А.Е., Струкова С.М., 1991). Максимальный уровень активаторов плазминогена зарегистрирован нами в венозной печеночной крови. Примечательно, что активатор плазминогена активизирует фактор роста гепатоцитов (Shimizu M., et. al., 2001). То есть, печень в физиологических условиях является не только органом, сдерживающим синтез плаз-

мина, но и органом, стимулирующим плазминообразование. Причем, эта стимулирующая роль печени в процессах плазминообразования, имеет свое непосредственное приложение преимущественно в легочном регионе. Интересно, что и моноциты имеют на своей поверхности специфические рецепторы для плазменного активатора плазминогена (Krasnikova T.L., et. al., 1999).

Таким образом, система гемостаза представляет собой многократно дублирующие друг друга механизмы активизации и подавления процессов свертывания, усиления и ослабления синтеза, разнообразных гемостазиологических факторов. Эти механизмы мозаично расположены в различных органах и тканях здорового человека. Одновременно с этим все эти механизмы крайне интимно взаимосвязаны между собой, как на локальном, так и на межрегионарном уровне. Все это и делает ГЕМОСТАЗ одним из важнейших компонентов осуществления стабильности системы ГОМЕОСТАЗА человека.

ГЛАВА 8

Роль факторов гемостаза в гуморальных реакциях организма здорового человека

Как неоднократно мы ранее говорили, в крови, оттекающей от нижних конечностей, регистрировалось наибольшее количество тромбоцитарных агрегатов ($11,71 \pm 1,11\%$), прямых свидетелей необратимой агрегации кровяных пластинок. Во время необратимой тромбоцитарной агрегации в окружающую кровь выделяются факторы, содержащиеся в гранулах кровяных пластинок (Савельев В.С. и др., 1981). Следует подчеркнуть, что в органеллах тромбоцитов хранится до 90% неметаболизированного (иными словами – активного), серотонина всего здорового организ-

ма человека (Междумян А.Г. и др., 1989). Достоверным маркером процесса освобождения тромбоцитарных гранул от их содержимого может являться активированный XIII фактор свертывания крови (фибриназа), так как его активизация осуществляется тромбоспонином, выделяющимся из указанных органелл кровяных пластинок (Bale M.D., Mosher D.F., 1985). Активность фибриназы в физиологических условиях у практически здоровых людей достигала своего абсолютного пика в крови из легочной артерии – $214,0 \pm 2,577$ ЕД.

Вследствие агрегации тромбоцитов осуществляется процесс их вязкого метаморфоза. Это, в частности, приводит к экскреции из кровяных пластинок различных биологически активных веществ, в том числе и серотонина. Выброс серотонина из тромбоцитарных гранул вызывает активацию серотониновых рецепторов сосудистых стенок и клеточных элементов крови (Гурковская А.В. и др., 1988, Метелица Т.В., 1989, Фетковска Н. и др., 1991). Активизация серотониновых рецепторов, через потенциалчувствительные Ca^{++} каналы и через потенциалнечувствительные Ca^{++} каналы вызывает сокращение гладкомышечных клеток сосудов, что может содействовать физиологическим механизмам подъема артериального давления в этих сосудах (Никифоров В.Н., Никифоров В.В., 1981, Бурый В.А. и др., 1988, Гурковская А.В. и др., 1988, Бурый В.А. и др., 1992). Иными словами, с учетом максимальной активности фибриназы в крови, изъятой из легочной артерии, как одного из ведущих маркеров экскреции тромбоцитарных гранул, можно полагать, что сердце является одним из самых потенциально интрагипертензионных регионов здорового человека.

Появление серотонина в циркулирующей крови значительно активизирует синтез простагландин F-2-альфа (Кубатиев А.А., Андреев С.В., 1981). Данный простагландин обладает выраженным вазоконстрикторным действием и одновременно с этим является стимулятором воспалительных процессов (Мусил Я., 1985). Кроме того, простаглан-

дин F-2-альфа является активнейшим стимулятором продукции норадреналина и ацетилхолина (Абоскулиева Л.И. и др., 1987). В то же время, этот агент обладает выраженным свойством повышать сократительные эффекты норадреналина, и что, примечательно, – высокоизбирательно провоцирует спазм ренальных артерий (Bredy-Dobreva G., Zafirov D., 1984). Одновременно с этим образующийся ацетилхолин не только повышает сосудистую проницаемость (с учетом ранее изложенных сведений – в первую очередь имеется ввиду проницаемость сердечных сосудов), но и оказывает интенсивный сократительный эффект на поврежденные сосуды (Зеймаль Э.В., Шелковников С.А., 1989, Пуговкин А.П. и др., 1992). Вопрос о физиологическом диссеминированном повреждении сосудов здорового человека, мы уже неоднократно обсуждали.

Повышение проницаемости артериальных сосудов часто содействует поступлению в их структуры митогенных и атерогенных факторов плазмы и ее клеточных элементов. Все эти процессы способствуют запуску атерогенеза и вазоконстрикции. Как можно полагать, из ранее изложенных в этой работе данных, наибольшей ранимостью и чувствительностью к этим процессам, даже в физиологических условиях, обладают сосуды СЕРДЦА.

Избыточное образование серотонина подавляет активность Na,K -АТФ-азы, обеспечивающей энергозависимый транспорт ионов Na^+ и K^+ через плазматическую мембрану, и соответственно ведет к избыточному накоплению натрия в клетках сосудов. Причем, чувствительность Na,K -АТФ-азы к серотониновому воздействию в 10 раз больше, чем к аналогичному воздействию ацетилхолина (Самагулова Э.Ш. и др., 1990). Примечательно, что внутриклеточная задержка натрия), связанная с блокадой Na,K -АТФ-азы), сопровождается двукратно большей задержкой Ca^{++} внутри клетки. Этот своеобразный механизма натриево-кальциевой системы резко стимулирует приток Ca^{++} в клетки (Шварц А., 1977), и усиливает их сократительную активность. Кроме того, внутриклеточный избыток ионов

натрия обеспечивает так называемые натрий-объем-зависимые пути подъема артериального давления (Шхвацабая И.К., 1982).

Серотонин играет центральную роль в регулировании взаимодействий надпочечников и гипофиза. Серотонин управляет активностью гипофиза и гипоталамических CRF-нейронов через взаимодействие с 5-HT рецепторами в этих структурах. Серотонин стимулирует синтез ренина, ангиотензина и альдостерона. На надпочечниковом уровне серотонин, через паракриновую систему стимулирует секреторную активность адренокортиальных клеток. Одновременно с этим через аденилатциклазу серотонин стимулирует внутриклеточный приток ионов Ca^{++} в адренокортикоидных клетках (Contesse V., et. al., 2000).

Серотонин также активно взаимодействует с лейкоцитами, участвуя в процессах их положительного хемотаксиса, хемокинезиса, экскреции их лизосомальных ферментов, и в активизации фагоцитоза (Дормидонтов Е.Н. и др., 1981, Тернер -Уорвик М., 1982, Мусил Я., 1985). Во время фагоцитоза (например, – фибриновых структур), лейкоциты генерируют в высокой степени активные формы кислорода: супероксид анион радикал, перокись водорода, гидроксильный радикал и синглетный кислород. Данные активные формы кислорода могут оказывать повреждающее действие на клеточные мембранны, в частности путем стимуляции процессов перокисного окисления липидов (Ланкин В.З. и др., 1985, Голиков А.П. и др., 1989, Кипшидзе Н.Н. и др., 1992, Неверов Н.И. и др., 1992, Погромов А.П. и др., 1992). Как мы уже ранее говорили, в крови из легочной артерии у практически здоровых людей содержится наибольшее содержание гидроперокисей липидов, по сравнению с аналогичным содержанием в крови из других сосудистых регионов ($3,782 \pm 0,276$ диеновых коньюгата). Иными словами, в системе микроциркуляции здорового сердца происходят самые интенсивные процессы перокисного окисления липидов.

Примечательно, что макрофаги во время фагоцитоза

на 80% интенсивнее выделяют активные формы кислорода и на 250% больше диеновых коньюгатов. При такой интенсивности процессов перокисного окисления липидов, адгезивность макрофагов к стеклу возрастает в 2 раза (Колосова Н.Г., Шишкина Л.Н., 1989). Данная активизация перокисного окисления липидов приводит к накоплению гидроперокисей липидов (Рудык Б.И., Сабадашин Р.А., 1991), которые могут разрушать клеточные мембранны, повреждать эндотелий сосудов, и кроме того могут непосредственно вызывать вазоконстрикцию аорты и артериальных сосудов (Биленко М.В. и др., 1989). Указанные реакции могут формировать механизмы подъема артериального давления.

Активированные (в том числе – серотонином), лейкоциты вырабатывают лейкотриены и тромбоксаны, участвующие в процессах вазоконстрикции и подъема артериального давления (Голиков А.П. и др., 1989, Люсов В.А. и др., 1989, Мойбенко А.А. и др., 1991, Кипшидзе Н.Н. и др., 1992), а так же генерируют фактор активации тромбоцитов.

Продукты перокисного окисления липидов не только повышают проницаемость эндотелия, повреждают липидный слой клеточных мембран, но и непосредственно содействуют развитию гиперхолестеринемии (Бровкович В.М. и др., 1987, Скаун П.Н., 1987, Сильвестров В.П. и др., 1991, Следзевская И.К. и др., 1992). В тоже время известны факты роли гиперхолестеринемии в процессах увеличения числа альфа-адренорецепторов в аорте кроликов, и снижения количества бета-адренорецепторов в сердце крыс, Прусских Г.А. и др., 1989), что так же может содействовать механизмам подъема артериального давления. Интенсификация процессов перокисного окисления липидов может приводить к модификации липопротеидов низкой плотности (ЛПНП), которые активно соединяются с холестерином, подвергаются агрегации и захватываются клетками макрофагального типа с последующей трансформацией их в «пенистые» клетки. Данные реакции могут создавать морфологические основы для атерогенеза (Кли-

мов А.Н. и др., 1987, Панасенко О.М. и др., 1988, Кузнецова А.С. и др., 1989).

Активизация перокисного окисления липидов содействует появлению различных путей формирования сдвигов рН в кислую сторону (вплоть до ацидоза), включая и механизм подавления активности креатинфосфокиназы (Брыгинский С.А. и др., 1988, Однокова В.А. и др., 1988, Голубева Л.Ю. и др., 1989, Спиричева Н.В. и др., 1989, Магомедов Н.М. и др., 1990). Как мы уже ранее говорили максимальные предпосылки для развития ацидоза формируются в венозной крови, оттекающей от конечностей здоровых людей, именно там мы обнаруживали значительное количество «избыточных» кислот. В венозной кубитальной крови количество этих веществ составляло $-2,915 \pm 0,254$ молей, а в крови из общей подвздошной вены было $-3,1 \pm 0,4$ молей. Лынев Г.О. с соавторами, исследуя кислородтранспортную функцию крови у больных с вазоренальной гипертензией, выявили явления значительной кислородной недостаточности. Причиной этого явления могло быть снижение сродства гемоглобина к кислороду из-за развития ацидоза (Бадальян Г.О., Епископоян Н.Г., 1983). Митохондриальные структуры сердца в ответ на кислородную недостаточность повышают свою активность, что ведет к усилению сократительной активности мышечных волокон сердца (Фролов Е.А. и др., 1986), что может содействовать процессам повышения артериального давления.

Как известно, для утилизации серотонина существуют три основных системы: цитохромная, церулоплазминовая и митохондриальной мембранный МАО (Захаров В.В. и др., 1989).

Продукты перокисного окисления липидов (в первую очередь – гидроперокиси липидов), обладают свойством инактивировать цитохром Р-450 и НАДФН-цитохром-с-редуктазу (Левина Л.Д., Мхитярян Л.М., 1988, Сербикова Е.А. и др., 1989, Уголов А.Т. и др., 1989). Как мы уже неоднократно указывали – наибольшее количество гидро-

перокисей липидов обнаруживалось нами у здоровых людей в крови из легочной артерии. Иными словами, в системе микроциркуляции сердца, возможно, имеет место самая низкая (в здоровом организме), активность цитохромной системы утилизации серотонина.

С учетом того, что гидроперокиси липидов являются (одновременно с выше сказанным) продуктами распада простациклина, имеет определенный смысл перечислить физиологические свойства этого простагландин. Оказалось, что основная часть простациклина синтезируется в организме человека в эндотелиоцитах. Сама же простациклин-синтетаза локализуется в эндоплазматической сети эндотелиальных клеток (Spisni E., et. al., 2001). Экскретируемый из эндотелиальных клеток в сосудистое русло простациклин выполняет роль мощного вазодилататора (Shimokawa H., 1999, Magness R.R., et. al., 2000). Одновременно со своим сосудорасширяющим эффектом, простациклин обладает довольно разнообразными функциями, включая, например, свойство ингибировать пролиферацию клеток гладких мышц (Okahara K., et. al., 1998). По данным Kahn N. и его соавторов, опубликованных в 2001 году простациклин активно ингибирует процессы скопления тромбоцитов. Кроме того, простациклин стабилизирует проницаемость эндотелия сосудов, поддерживает нормальный энергообмен в сосудистой стенке, обладает выраженным антисклеротическим эффектом и антихолестериновым действием (Cootto A.K. et.al., 1984, Fitscha P. et.al., 1984, Goos H. et.al., 1984, Mentz P. et.al., 1984, Muller B. et.al., 1984, Smith E.F. et.al., 1984, Ефимов В.В., Ладный А.И., 1985, Смирнов В.Н., Репин В.С., 1985, Целуйко В.И. и др., 1987, Габриелян Э.С. и др., 1988). Кроме того, простациклин подавляет пролиферативную активность гладкомышечных клеток артерий, поддерживает нормальный дзета-потенциал эндотелия и форменных элементов крови (Балуда В.П., Лукоянова Т.М., 1981, Зубаиров Д.М., Андрушко Н.А., 1981, Fitz-gerald G.A. et.al., 1984, Fitscha P. et.al., 1984,

Kovacs I.B., O'Grady J., 1984, Smith D.L. et .al., 1984, Габриелян Э.С. и др., 1988).

В то же время, простациклин стимулирует синтез антагонистов кальциевого насоса, обладает выраженным мембраностабилизирующим действием, понижает чувствительность мембран к ионам Ca^{++} , повышает продолжительность жизни форменных элементов крови и блокирует механизмы их разрушения (Балуда В.П. и др., 1980, De Clerck F., David J.L., 1981, Вацкинель В.К., Петров М.Н., 1982, Fitscha P. et.al., 1984, Goos H. et.al., 1984, Kovacs I.B., O'Grady J., 1984, Mentz P., Pawelski K.E., 1984, Mest H.J., Winkler J., 1984, Muller B. et.al., 1984, Smith E.F. et.al., 1984, Szekeres L. et.al., 1984, Смирнов В.Н., Репин В.С., 1985, Николаева Л.Ф. и др., 1988, Люсов В.А. и др., 1989). И, наконец, простациклин подавляет центральное прессорное артиотензина, замедляет освобождение креатинкиназы, осуществляя существенную конкуренцию тромбоксанам (в том числе за счет своего вазодилатационного и гипотензивного действия), и обладает свойством тормозить реакции освобождения лизосомальных энзимов (Мандровская Н.В. и др., 1983, Cannon P.J., 1984, Darius H. et.al., 1984, Ito T. et.al., 1984, Krzeminski T. et.al., 1984, Malomvolgyi B. et.al., 1984, Rampart M. et.al., 1984, Scholkens B.A. et.al., 1984, Sterin-Borda L.J. et.al., 1984, Taube Ch. et.al., 1984, Thiemermann C., Schror K., 1984, Vapaatalo H. et.al., 1984, Ylitalo P. et.al., 1984, Габриелян Э.С. и др., 1986, Вихерт А.М., 1989, Коломией В.И., Васильев Ю.М., 1989, Люсов В.А. и др., 1989). Как мы уже неоднократно ранее говорили, в физиологических условиях (согласно нашим данным), наибольшей простациклиновой активностью обладает сердце.

Ранее мы уже описывали факт наиболее активного синтеза гепарина в системе микроциркуляции легких у практически здоровых людей. Несколько менее активно осуществляется его синтез в печени. В крови из других регионов его содержание существенно падает. То есть,

данний антикоагулянт активно используется здоровым организмом человека для определенных физиологических нужд. Спрашивается, какова его физиологическая роль, или роли? Оказалось, что гепарин подавляет синтез фактора роста фибробластов (Tanihara M., et al., 2001), но при этом по данным Park M. и Lee S.T., опубликованным в 1999 году, он в низких концентрациях активизирует деятельность эндотелиального фактора роста, а в больших концентрациях подавляет эту активность. Кроме того, гепарин блокирует взаимодействие XI и IX факторов свертывания крови, активизацию X-го фактора свертывания, протеолитическое действие тромбина на фибриноген (Gurewich V., 1976), блокирует активизацию системы свертывания, предотвращает стимулирующее действие тромбина на тромбоциты и плазминоген, ингибитирует коагулопатическое потребление тромбоцитов (Edson J.R., 1974), препятствует образованию протромбина, тромбокиназы и выпадению фибрин (Scharrer I., 1975), вызывает торможение коагуляционного гемостаза (Иашвили Б.П., 1984), блокирует формирование фибрин (Bickel G., 1972). Кроме того, гепарин в значительной степени обеспечивает дзета-потенциал факторов гемостаза и эндотелия, тем самым, препятствуя отложению фибрин и тромбоцитов на поверхности эндотелиальных клеток (Рзаев Н.М., 1970). Гепарин блокирует адгезию, обратимую и необратимую агрегацию тромбоцитов (Wessler S., Thye E., 1974, Clagett G.P., Salman E.W., 1975, Лакин К.М., Овнатанова М.С., 1977), уменьшает явление внутрисосудистого стаза, агрегацию эритроцитов и интенсивность микротромбобразования (Петрова Т.Р., Вильчинская М.Н., 1984). Причем, воздействуя на эритроциты и тромбоциты, гепарин не только повышает их дзета-потенциал, но и их электрофоретическую подвижность, что не позволяет этим форменным элементам крови контактировать как друг с другом, так и с сосудистой стенкой и фибриновыми молекулами (Самойлов А.П., Пятова Ж.А., 1973, Шестаков В.А. и др., 1973). Сниженный синтез нуклеиновых

кислот в тромбоцитах и лейкоцитах (Фельдбаум В.А., 1973), гепарин содействует падению контрактильных свойств этих элементов крови и подавляет их секреторные возможности.

Гепарин не только предупреждает процессы тромбообразования, развитие диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови и формирование эмболий (Федорова Э.Д., Туманская З.М., 1973, Митрошина А.В., Горбунова З.В., 1975, Cooper J.D. et.al., 1976, Koller F., 1977, Bunjevacki G. et.al., 1979, Мазурик Ф.М. и др., 1983), но и лизирует тромбы и эмболы, осуществляя реканализацию сосудов (Ефетова Т.М., 1973, Common H.H. et.al., 1976). Одновременно с этим, гепарин «рассасывает» геморрагии и плазморрагии, уменьшает процессы дегенерации тканей (Черкасов И.С., Нахабина Т.П., 1973).

Гепарин обладает мощным антилипидемическим и антисклеротическим действием (Ананченко В.Г., Долбилова В.А., 1965), нормализует тонус и упругое напряжение эластических и мышечных артерий и их функциональное состояние, снижает систолическое артериальное давление при артериальных гипертензиях, обладает выраженным коронарорасширяющим и антиангинальным действием (Ананченко В.Г., Долбилова В.А., 1965, Кибарскис Х., Сабитова Л., 1965). Этот антикоагулянт не только содействует стиханию болевого синдрома при ишемической болезни сердца, но и улучшает показатели электрокардиограмм, улучшает фазовую структуру сердечных сокращений, удлиняет сердечный цикл и период изgnания (Гефтер А.И. и др., 1965, Чувикова В.Т., Креминская Н.К., 1967).

Улучшая метаболические процессы в печени (Jordo L., Olsson R.O., 1972), изменяя условия тканевого обмена, гепарин повышает устойчивость организма к гипоксии (Сухоруков В.П. и др., 1973). Подавляя образование бета-фибриногена (Красноперов Ф.Т., 1975, Розенфельд М.А. и др., 1981), гепарин препятствует «рыхлому» тромбообразованию и тромбоэмболиям. В тоже время, разрушая жировую

плёнку, состоящую из макромолекулярных липопротеидов, на поверхности сосудов, гепарин значительно улучшает диффузию кислорода в ткани и органы (Суряднова Б.А., Гольдберг Г.А., 1973), что снижает явления ацидоза, при котором крайне активно образуется бета-фибриноген. Гепарин является ведущим ингибитором гиалуронидазы, разрушающей гиалуроновую кислоту (что резко повышает сосудистую проницаемость), одновременно с этим гепарин связывает гистамин, существенно снижая за счет этого эффекта проницаемость сосудов (Струков А.И., Бегларян А.Г., 1963, Шокарева Г.В. и др., 1992). Антитромбиновое действие гепарина осуществляется путем катализации антитромбина-3, инактивирующего тромбин (Башков Г.В., 1990). Примечательно, что в свою очередь антитромбин-3, является не только ведущим фактором противосвертывающей системы человека. Кроме того, он непосредственно инициирует экскрецию эндотелина-1 (Stangl K., et al., 1999), который, являясь мощным вазоконстриктором, в свою очередь, взаимодействуя с тромбоцитами, вызывает их вязкий метаморфоз (Rosskopf D., 1999), следствием которого является синтез и экскреция таких вазоконстрикторов как тромбоксаны.

Примечательно, что инсулин взаимодействует со своими рецепторами только в присутствии гепарина. Причем, одновременно с этим, гепарин является фактором восстановления бета-клеток поджелудочной железы (Ульянов А.М. и др., 1987). То есть, гепариновый дефицит может приводить к падению уровня ассимиляции глюкозы, и соответственно – к энергетическому голоду тканей. Кроме того, гепарин, связываясь с CYR61, добивается спайки клеток и вызывает их активное перемещение. В комплексе с CYR61 он усиливает активность фактора роста фибробластов и их пролиферацию. CYR61 является членом CCN белкового семейства. Это ангиогенный фактор стимулирующий ангиогенез. Он является внеклеточным веществом ассоциированным с матриксом. Присутствие

CYR61 весьма выражено в фибробластах. Его соединение с фибробластами осуществляется с помощью интегрина, а сам процесс соединения интенсивно регулируется матричными металлопротеиназами 1 и 3 (Grzeszkewicz T.M., et. al., 2001).

Кроме того, гепарин обладает активным коронаорасширяющим действием (Суряднова Б.А., Гольдберг Г.А., 1973), он является антагонистом альдостерона (Алиев М.А. и др., 1973), активатором ингибиторов каллекреина (Суровикина М.С. и др., 1983), и обладает брадикининразрушающим действием. Кроме того, что гепарин самым интенсивным образом подавляет активность тромбина (Matsubayashi H., et. al., 2000), он также и подавляет активность химаз нейтрофилов (Takao K., et. Al., 2001), а связываясь с человеческим хемокином – гепарин ингибирует эндотелиальную пролиферацию клеток и процессы angiогенеза (Gentilini G., et. al., 1999). Гепарин является отрицательно заряженным гликозаминогликаном, секретируемым тучными клетками (Forsberg E., et/ al., 1999, Hamphries D.E., et. al., 1999). Процессы пролиферации и созревания тучных клеток регулируются интерлейкином-3 (Ito F., et. al., 1999). Примечательно, что именно хемокины связывают гликозаминогликаны на поверхности самых различных клеток (Koormann W., et. al., 1999). В то же время прикрепление самого хемокина к поверхности тучной клетки ингибируется в свою очередь самим гепарином (Patel D.D., et al., 2001). А сами тучные клетки, в свою очередь активно синтезируют и хемокины, и цитокины и факторы роста (Yamamoto T., et. al., 2001). Следует также отметить и тот факт, что гепарин в синергизме с эндотелиальным фактором роста вызывает пролиферацию клеток, ингибирует интерлейкин-1 и матричную белковую экспрессию (Hsu J.Y., et. al., 1999).

Как мы уже многократно говорили, важнейшим физиологическим антагонистом гепарина у здорового человека является тромбин. Данный фактор является не только од-

ним из ключевых ферментов свертывающей системы крови, но и обладает другими многочисленными свойствами, взаимодействуя с фибриногеном тромбин отщепляет от него концевые низкомолекулярные фибринопептиды, принимающие самое активное участие в механизмах регуляции артериального давления (Кудряшов Б.А., 1975, Щепотин Б.М., Ена Я.М., 1987, Дюбанова Г.А. и др., 1990, Воробьев В.Б., 1995). Наибольшее количество низкомолекулярных пептидов, согласно нашим данным, образуется в системе микроциркуляции верхних конечностей. Кроме того, при взаимодействии тромбина с фибриногеном образуются фибрин-мономеры, растворимый фибрин и бета-фибриноген. В дальнейшем, при взаимодействии тромбина с фибриназой (XIII-ым фактором свертывания крови), происходит перевод этого вещества в активное состояние. Образовавшийся при этом фактор XIIIa принимает самое активное участие в процессах полимеризации фибрин-мономеров, растворимого фибрина и бета-фибриногена (Кудряшов Б.А., 1975, Балуда В.П. и др., 1980, Иванов Е.П., 1983, Щепотин Б.М., Ена Я.М., 1987, Дудаев В.А. и др., 1988, Дюбанова Г.А. и др., 1990).

Кроме того, тромбин инактивирует липопротеиновую липазу, что замедляет гидролиз жиров и ведет к развитию гипербеталипопротеидемии. Контактируя с рецепторами тромбоцитов тромбин, активизирует АТФ-азу кровяных пластинок, вызывая при этом распад АТФ и образование аденоzinинфосфата. Реагируя с рецепторно взаимосвязанным с тромбоцитами фибриногеном, тромбин превращает его в фибриновые структуры, интимно связанные с наружной мембраной тромбоцитов. Образование внутри тромбоцитов аденоzinинфосфата, и появление на поверхности кровяных пластинок фибриновых молекул, способствует вязкому метаморфозу тромбоцитов. Во время этого метаморфоза из тромбоцитов в окружающую среду выбрасываются серотонин, катехоламины, бета-тромбоглобулин, антигепариновый фактор, тромбоксаны и фибронектины. В

момент рецепторного контакта с кровяными пластинками тромбин перестраивает их мембранные липиды, вызывая повышение текучести липидного слоя плазматической мембраны тромбоцитов, что обеспечивает распластывание тромбоцитов на поврежденных зонах сосудистого эндотелия (Громадский Н.И., 1974, Балуда В.П. и др., 1980, Block H.U. et.al., 1984, Щепотин Б.М., Ена Я.М., 1987, Викторов А.В. и др., 1988). Примечательно, что активизация тромбином тромбоцитов приводит к изменениям в молекулах поверхности кровяных пластинок, за счет чего в них происходит увеличение содержания селектина (Macey M.G., et al., 1999). В 1999 году Mercer-Jones M.A. с соавторами опубликовали свою работу, в которой доказывается, что именно селектины провоцируют процессы прикрепления нейтрофилов к эндотелию, а хемокины регулируют это действие селектинов. Интересен и тот факт, что селектин осуществляет функцию рецептора спайки (склеивания) лейкоцитов с эндотелиальными клетками и с тромбоцитами. Одновременно с этим селектин отвечает как за процессы активизации тромбоцитов, так и за процессы активизации тромбомодулина (Sakamaki F., et al., 2000). Кроме того, в результате взаимодействия тромбина с тромбоцитами, кровяные пластинки начинают активно синтезировать сосудистый эндотелиальный фактор роста, который осуществляется дифференциацию и пролиферацию эндотелиоцитов (Weltermann A., et al., 1999), вызывая экспрессию мРНК в специфических эндотелиальных рецепторах (Tsopanoglou N.E., Maragoudakis M.E., 1999). Имеются также данные, указывающие на активное участие тромбина в инициации синтеза цитокинов, в частности интерлейкина-6 (Shimizu T., et al., 1999). Те же авторы описали факт стимуляции тромбином секреции лимфокина в окружающую среду. В 2000 году Ludwicka-Bradley A. с соавторами опубликовал данные, указывающие на стимулирующую роль тромбина в процессах экспрессии интерлейкина-8 в фибробластах легких. Примечательно, что тромбин кроме прочего, стиму-

лирует синтез внеклеточного матричного белка – тенаскина-С в фибробластах легких, одновременно с этим стимулируя продукцию в них мРНК (Toukina E., et al., 2001). Взаимодействуя с моноцитами тромбин, активизирует в них синтез ДНК и хемотактического пептида MCP-1 (Grandaliano G., et al., 2000), при этом тромбин активно защищает моноциты от апоптоза (Ritchie H., Fragoyannis A., 2000).

Взаимодействуя с лейкоцитами тромбин вызывает в них синтез и дальнейшую экспрессию лейкотриенов, мощных вазоконстрикторов, бронхоконстрикторов, стимуляторов хемотаксиса и хемокинезиса, факторов стимуляции выброса из лейкоцитов их лизосомальных ферментов, факторов инициации адгезии лейкоцитов к эндотелию, факторов, обеспечивающих повышение проницаемости сосудов за счет расширения межэндотелиальных пространств, факторов активизации микровезикулярного транспорта и антагонистов синтеза простациклина. Причем, в результате физиологического разрушения лейкотриенов образуются агрессивные продукты перокисного окисления, обладающие не только мощным вазоконстрикторным эффектом, но и активной способностью разрушать эндотелиальные клетки (Bisgaard H. et.al., 1984, Dembinska-Kiek A. et.al., 1984, Cannon P.J., 1984, Forster W., 1984, Ponick K., Forster W., 1984, Votava Z., 1984, Габриелян Э.С. и др., 1986, Габриелян Э.С. и др., 1990, Мойбенко А.А. и др., 1991, Кипшидзе Н.Н. и др., 1992, Coffey M.J., et. al., 1999, Nakao A., et. al., 1999, Thivierge M., et. al., 2000, Haribadu B., et. al., 2000, Kuhns D.B., et. al., 2001). Примечательно, что гликолиз мембранныго фосфолипида фосфолипазой-2 является ключевым шагом в продукции лейкотриенов (Cho W., 2000).

Тромбин имеет свои специфические рецепторы не только на поверхности тромбоцитов и лейкоцитов, но так же и в наружных мембранах эндотелиоцитов, фибробластов и тучных клеток. Связываясь с тучными клетками костного мозга, тромбин стимулирует данные клеточные структу-

ры для секреции гистамина. Рецепторно взаимодействуя с тучными клетками перитонеальной оболочки, тромбин активизирует их для синтеза гепарина. Связываясь с макрофагами, он инициирует их пролиферацию. Взаимодействуя с рецепторным аппаратом эндотелиоцитов (с тромбомодулином, расположенным в эндотелиоцитарных мембранах), тромбин активизирует систему противосвертывания крови, инициируя активизацию синтеза гепарина. Рецепторно взаимодействуя с протеином «С», тромбин переводит его в активное состояние. Следствием этих процессов является инактивация факторов Va, VIIIa, ингибитора тканевого активатора плазминогена и освобождение из сосудистых структур профибринолитических ферментов. В тоже время, взаимодействуя с почками, каротидным синусом и венами тромбин рефлекторно активизирует противосвертывающую систему крови. Одновременно с этим, поглощаясь эндотелием он провоцирует в эндотелиоцитах процессы синтеза и экскреции простациклина (Кудряшов Б.А., 1975, Струкова С.М. и др., 1986, Лукьяненко Е.Ф. и др., 1988, Коган А.Е., Струкова С.М., 1989, Умарова Б.А. и др., 1989, Башков Г.В., 1990, Коган А.Е., Струкова С.М., 1991, Струкова С.М. и др., 1991). Кроме того, тромбин стимулирует продукцию реактивных (синглетных) форм кислорода (Madamanchi N.R., et al., 2001), которые в свою очередь, стимулируют действия киназ, фосфотаз и факторов транскрипции (Chen S., et al., 2000), а так же инициируют процессы апоптоза (Reiff D.A., et al., 2001). Апоптоз – это физиологический процесс смерти клетки, встречающийся в основном у многоклеточных организмов (Piliponsky A.M., Levi-Schaffer F., 2000).

Кроме активного участия в системе гемостаза, тромбин обладает еще и свойствами кофактора многих других систем, и даже обладает гормоноподобными свойствами. Так, например, осуществляя действие, схожее с действием клеточных гормонов, он провоцирует рост и клеточное деление фибробластов, повышает их синтетическую актив-

ность в том числе, в виде продукции оксипролина и гликозаминогликанов (Малежик Л.П., 1983). Под воздействием тромбина многократно увеличивается содержание внутриклеточного Ca⁺⁺, способствующего эффектам вазоконстрикции и подъему артериального давления (Мерзон К.А., 1987, Гурковская А.В. и др., 1988, Балыкина Е.В. и др., 1991, Феоктистов И.А. и др., 1991, Бурый В.А. и др., 1992). Тромбин активизирует синтез кальдомодулинзависимой Ca⁺⁺протеинкиназы и протеинкиназы «С» – являющихся месиндженерами адреналина и ангиотензина (Федоров Н.А. и др., 1990). Одновременно с этим, тромбин значительно усиливает сократительные эффекты ацетилхолина, который, влияя на ретикулярное ядро покрышки среднего мозга, существует в тригерных механизмах атерогенеза (Панченко А.Л., 1983, Данилов Г.Е., Ибатов А.Д., 1991). Существует и обратное действие тромбина на артериальное давление взаимодействуя с рецепторами эндотелиоцитов, он инициирует в них синтез эндотелиального фактора расслабления (эндогенного нитрата), снижая прессорную функцию артериальных сосудов (Сагач В.Ф., Ткаченко М.Н., 1989, Тараненко В.М. и др., 1989, Манухина Е.Б., 1990, Федоров Н.А. и др., 1990). Примечательно, что эндотелиальный фактор расслабления – оксид азота, обладает не только сосудорасширяющим эффектом, но и мощным физиологическим антиагрегантным действием (Geiger J., 2001). Одновременно с этими эффектами оксид азота выражено подавляет процессы скопления тромбоцитов и их активизацию (O'Donnell V.B., et al., 2000., Freedman J.E., et al., 2000). Кроме того, оксид азота стимулирует в тромбоцитах синтез циклического гуанин монофосфата – цГМФ (Durian M.G., et al., 2000), ингибируя, в значительной степени за счет этого, процессы адгезии, агрегации и депонирования тромбоцитов (Ramamurthi A., Lewis R.S., 2000). В больших концентрациях оксид азота активно участвует в противовоспалительных процессах – уничтожая микроорганизмы в низких концентрациях, он расслабляет гладкие мышцы. Оксид азота

вырабатывается с помощью NO-синтетазы, которая обнаружена не только в эндотелиальных клетках, но и в эпителиоцитах, макрофагах, нейтрофилах, тучных и гладкомышечных клетках, а так же в неадренергических и нехолинергических нейронах (ten Hacken N.H., et al., 1999). В 2001 году Forsythe P. с соавторами подтвердил тот факт, что тучные клетки синтезируют оксид азота, а Tirosh O. со своими коллегами доказали в том же 2001 году, что оксид азота является физиологическим ингибитором митохондриального дыхания.

Учитывая ранее изложенные факты, указывающие на способность гепарина участвовать в механизмах снижения артериального давления. Принимая во внимание ряд косвенных данных указывающих на возможность участия тромбина в механизмах подъема артериального давления. И, наконец, учитывая тот факт, что оба этих биологически активных субстратов являются антагонистами, практически по всем механизмам своих воздействий на организм. Мы решили выяснить – является или не является тромбин фактором физиологической регуляции артериального давления.

Результатом данного решения был ряд экспериментов.

Материалом для проведения экспериментов были шесть беспородных собак (самцов), весом от 6,5 до 9,5 килограммов, а также белые крысы в количестве 58 самцов линии Вистар, весом 200-300 граммов.

Главной задачей, проводимых экспериментов, являлась проверка нашей гипотезы о возможности существования атромбогенного механизма гуморального воздействия тромбина на системы повышения систолического и/или диастолического артериального давления. Для этого шести собакам (с соблюдением требований приказа МЗ СССР №755 от 12.08.77 года) осуществлялся наркоз. А именно, им внутриплеврально медленно вводилось 20-25 мг/кг тиопентала на физиологическом растворе. Затем вводился барбитал в виде 12,5% раствора, опять же внутриплевраль-

но (из расчета 250 мг/кг), для поддержания дальнейшего длительного наркоза.

У всех животных определялось артериальное давление «кровавым» способом, с дальнейшей регистрацией на манометре. После введения в наркоз, систолическое артериальное давление составляло в среднем $132,0 \pm 4,66$ мм рт. ст., а диастолическое – $79,7 \pm 6,5$ мм рт.ст. Трем контрольным животным внутриартериально вводилось 200,0 миллилитров физиологического раствора, другим трем – 200 мг тромбина в 200,0 мл физиологического раствора. То есть количество введенного тромбина (с учетом 200 мл физиологического раствора), составило концентрацию равную 1-2 единиц активности тромбина на 1 миллилитр циркулирующей крови животного.

Целесообразность введения данной дозы тромбина была обусловлена тем, что ранее был экспериментально доказан факт осуществления тромбоксанового синтеза в тромбоцитах при концентрации тромбина равной 20 единицам активности на 1 миллилитр крови (Block H.U. et.al., 1984). В то же время для запуска второй противосвертывающей системы крови (по данным Кудряшова Б.А., 1975), необходимо создать концентрацию тромбина равную 40 единицам активности на 200 граммов веса животного. Иными словами, нашим подопытным животным эта доза составила до 1000 миллиграмм на одно животное. Таким образом, подобранная нами доза тромбина никоим образом не могла стимулировать ни синтез тромбоксанов, ни запуск второй противосвертывающей системы крови, ни тем более – процессы внутрисосудистого тромбообразования. То есть, в самом начале наших экспериментов мы практически исключили возможность моделирования (указанными дозами тромбина), гемостазиологических (обусловленных тромбозами и аналогичными феноменами), механизмов регуляции артериального давления.

По истечении 90-120 минут, после проведения внутриартериальных инфузий у трех контрольных животных, ар-

териальное давление оставалось на том же уровне, с недостоверной тенденцией к снижению. Так, уровень систолического артериального давления составлял $127,0 \pm 1,4$ мм рт.ст., а диастолического – $74,0 \pm 1,4$ мм рт.ст. В то же время у трех собак, активизированных внутриартериальным нетромбогенным введением тромбина, мы выявили отчетливое повышение артериального давления. Данная ситуация касалась как подъема систолического артериального давления ($191,7 \pm 8,5$ мм рт.ст.), так и подъема диастолического давления – $108,3 \pm 6,2$ мм рт.ст. Такой подъем артериального давления регистрировался нами в течение 60–80 минут, затем в течение 30–45 минут артериальное давление снизилось до исходного уровня. На этом данный эксперимент был закончен и животные не забивались.

Учитывая тот факт, что выявленное явление подъема артериального давления под воздействием нетромбогенных доз тромбина, не являлось результатом гемостазиологической деятельности указанного агента, то мы предположили возможность существования гуморального механизма влияния тромбина на функционирование ренин-ангиотензиновой системы. А именно – в роли стимулятора деятельности этой системы. Предположение о возможной роли тромбина как гуморального активатора синтеза ренина и ангиотензина (но не о его роли как фактора освобождения и экскреции указанных веществ), основывалось на том, что подъем артериального давления, развивался только через 90–120 минут после внутриартериального введения тромбина. Иными словами, если бы тромбин являлся фактором освобождения или агонистом экскреции ренина или ангиотензина, то артериальное давление поднялось бы за гораздо меньшее время (практически за несколько минут). В то же время, по данным Day F.L. и его соавторов (1999), следует, что именно ангиотензин является весьма мощным вазоконстриктором. Кроме того, ангиотензин обладает и выраженным пролиферативным эффектом (Bataineh A., Raij L., 1998), а так же по данным Gesualdo L., et

al (1999), стимулирует экспрессию физиологического ингибитора активатора плазминогена. В то же время, по данным Rosskopf D., опубликованным в 1999 году, ангиотензин стимулирует систему кальдомодулина и фосфорилиацию тирозина эндоплазматических белков тромбоцитов.

Чтобы подтвердить или опровергнуть выдвигаемую нами гипотезу мы решили провести другой эксперимент. Так как в предыдущем эксперименте мы использовали введение тромбина из расчета до 1 мг на 100 граммов веса животного, то и в этом эксперименте мы использовали аналогичную дозировку. Так, 11 подопытным крысам в югулярную вену вводилось 2 мг тромбина растворенного в 2 мл физиологического раствора. Трем контрольным крысам вводилось так же в югулярную вену просто 2 миллилита физиологического раствора. Перед введением растворов у всех животных забиралось 2 мл крови из югулярной вены. Это производилось с двумя целями. Во-первых, предварительными заборами крови мы нивелировали последующее введение аналогичного объема жидкости. Во-вторых, забранная кровь использовалась для исследования содержания в ней активного ренина плазмы и ангиотензина-1. Исследования этих веществ проводились радионуклеидными методами. Итак, через 90 минут после введения раствора тромбина или просто физиологического раствора у всех животных вновь забиралось 2 мл крови из югулярной вены, для последующего радионуклеидного исследования активного ренина плазмы и ангиотензина-1. После этого животные забивались.

При морфологическом и гистологическом исследовании внутренних органов забитых животных ни в одном случае не было обнаружено макро- или микротробозов. Во всех исследуемых зонах отсутствовал сладж-феномен. Однако, мы зарегистрировали минимально выраженные явления стаза в сосудах печени. Причем, минимальные проявления стаза в сосудах печени наблюдались нами как у животных, активизированных раствором тромбина, так и у

контрольных животных. То есть, это явление никоим образом не было связано с тромбиновым воздействием на гемостаз, но при этом – фактически являлось следствием самого эксперимента (в частности, из-за длительной иммобилизации, экспериментального стресса и так далее).

Количество активного ренина плазмы в крови, забранной перед началом эксперимента, составило – $11,712 \pm 1,352$ нг/мл/час, а содержание ангиотензина-1 в крови подопытных крыс составило – $1,732 \pm 0,645$ нг/мл/час. У контрольных животных в крови, забранной в финале эксперимента, количество активного ренина плазмы составило – $11,927 \pm 1,8$ нг/мл/час, а содержание ангиотензина-1 было – $1,913 \pm 0,5$ нг/мл/час. То есть, введение животным физиологического раствора не вызвало у них изменений в синтезе ренина и ангиотензина-1.

Совершенно другая картина наблюдалась у животных, которым вводился раствор тромбина. А именно, количество активного ренина плазмы увеличивалось в 3,7 раза, что составило – $42,981 \pm 6,129$ нг/мл/час. Одновременно с этим содержание ангиотензина-1 увеличивалось в 3,6 раза, что равнялось – $6,239 \pm 0,405$ нг/мл/час.

Таким образом, наша гипотеза, предложенная в результате первого эксперимента, достоверно и отчетливо подтвердилась после проведения второго исследования. Следовательно, действительно тромбин в агромбогенных дозах является гуморальным фактором, активизирующим синтез ренина и ангиотензина-1.

Как известно, активизация ренин-ангиотензиновой системы вызывает усиление синтеза альдостерона в надпочечниках и соответственно усиление резорбции Na^+ и молекул воды в проксимальном отделе канальцев почек (Розен В.Б., 1980, Мухин Н.А., Тареева И.Е., 1985). Повышение резорбции натрия и воды не только повышает артериальное давление (Розен В.Б., 1980), но и содействует отеку эндотелия.

Следовательно, введение тромбина подопытным кры-

сам в агромбогенных дозах должно было вызывать не только увеличение синтеза и экскреции активного ренина плазмы и одновременно с этим ангиотензина-1, но и должно было соответственно вызывать увеличение синтеза альдостерона и развитие элементов отечного синдрома. Последнее должно было наблюдаться в первую очередь в почечных структурах подопытных крыс.

Действительно, проведя электронномикроскопическое исследование почек экспериментальных животных, мы обнаружили отчетливые проявления отечного синдрома, в виде утолщения подоцитов и сужения межподоцитарных щелей, что существенно снижало проницаемость фильтрационного барьера почек подопытных крыс (рис. 15).

Таким образом, тромбин является не только одним из ключевых факторов гемостаза, но и гуморальным агентом.

ЧАСТЬ 2

ПРИОРИТЕТНЫЕ СПОСОБЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ГЕМОСТАЗА

ГЛАВА 1

Способ количественного определения фибрин-мономеров

Открытая публикация сведений о заявленном изобретении «Способ количественного определения фибрин-мономеров» №3852342/14, РАЗРЕШЕНА ВНИИГПЭ.

Появление в циркулирующей крови фибрин-мономерных соединений, согласно результатов наших исследований (Воробьев В.Б., 1995 докторская диссертация), является отчетливым проявлением гиперкоагуляции. Повышенное содержание фибрин-мономеров прямо указывает на тромбофилю, диссеминированное внутрисосудистое свертывание или – является маркером тромбообразования. Иными словами эффективное количественное определение фибрин-мономеров может повысить качественность прижизненной диагностики указанных выше состояний, которые зачастую становятся ведущими в татогенезе при самых различных заболеваниях. Еще в 1983г. Зиновием Соломоновичем Баркаганом на II Всесоюзной конференции «Поражение сосудистой стенки и гемостаз», прошедшей в г. Минске, было высказано мнение, что поиск точного, информативного способа, позволяющего не только качественно (визуально), но и количественно –

определить наличие фибрин-мономеров – является одной из насущных и важнейших проблем гемостазиологии. С тех пор прошло очень много времени, координально изменились диагностические возможности в гемостазиологии. Но, появление новых методов диагностики гемостазиологических факторов и процессов, к огромному сожалению мало что изменили в практической отечественной диагностике. Да, действительно, и в нашей стране появились диагностикумы и автоматизированные лаборатории по исследованию гемостаза. Однако, все эти современные достижения медицинской науки практически не доступны на местах. Причем, доступность современной гемостазиологической диагностики ограничивается только ведущими медицинскими центрами. Она – эта современная гемостазиологическая диагностика, практически отсутствует на местах, не только на уровне районных, но и на уровне многих городских больниц нашей страны. И как ни прискорбно, большинство методик, применяемых для диагностики гемостаза в наших клиниках, были созданы 20–30 лет тому назад.

С учетом всего выше изложенного мы решили создать способ количественного определения фибрин-мономеров, который может быть достаточно дешевым и одновременно с этим может быть осуществим даже на уровне районной больницы или поликлиники.

В городских лабораториях, специализирующихся на проблемах гематологии и гемостазиологии, до сих пор оптимальным (в первую очередь по финансовым затратам), считается способ определения фибрин-мономеров по Godal H., в модификации Лычева В.Г., описанный Балуда В.П. еще в 1980 году. Этот метод действительно доступен не только для городских, но и для районных больниц и поликлиник. Для его осуществления в пробирку вносят 0,4 мл исследуемой плазмы (инкубированной на льду). Затем к этой плазме добавляют 0,15 мл 50% этанолового спирта. Пробирку встряхивают и включают секундомер. Через 10 минут при комнатной температуре, или при температуре равной от +4 до + 8 градусов по Цельсию, проводят опре-

деление: появилось или не появилось в исследуемой плазме желеобразное образование (типа геля), или сгусток.

Как видно из вышеизложенного описания, этот способ очень прост и доступен. Его можно применять практически в самых примитивных условиях. И одновременно с этим затраты для осуществления данного способа диагностики фибрин-мономеров являются микроскопическими. Из-за этих позитивных моментов, данный метод достаточно распространен. Однако, в чем же его недостатки?

Первым недостатком данного способа диагностики фибрин-мономеров является тот факт, что его использование приводит к осаждению не только фибрин-мономеров, но и вообще большинства так называемых продуктов «паркоагуляции».

Положительной реакцией, при использовании этого метода, считается образование геля или сгустка в течение 10 минут. Более позднее образование геля или сгустка чаще всего не учитывается. Мы начали анализировать достоинства и недостатки этого метода практически сразу после его публикации. За несколько лет исследований нам удалось выявить следующее – гель или сгусток могут образовываться и за 1-5 минут, и через 30 минут. По нашим данным эти факты свидетельствуют не только о дефектах указанного метода, но и о том, что процессы формирования фибрин-мономеров существенно разнятся по временным показателям, как в норме, так и при самых различных патологических процессах.

Вторым существенным недостатком метода определения фибрин-мономеров, предложенным еще в 1971 году Gudal H.C., Abildgaard U., Kierulf P., явилось то, что фиксация наличия гелей или сгустков плазмы в исследуемых пробирках, осуществлялась авторами без всякого анализа свойств указанных структур. В то же время в результате нашей многолетней работы оказалось, что и гели и сгустки могут образовываться не только в существенно различные сроки после начала реакции осаждения продуктов «паркоагуляции» (в частности – фибрин-мономеров), но и

проявляют себя различными физическими и биохимическими свойствами. Так, например, при использовании данной методики удается выделить фибрин-мономеры в виде: полностью или частично прозрачных структур, или в виде почти непрозрачных образований. Одновременно с этим осаждаемые гели или сгустки, согласно нашим исследованиям, могут либо очень быстро и самостоятельно разрушаться, приводя к полной или почти полной прозрачности исследуемого объекта, либо могут оставаться в своей ипостаси в течение многих часов. Например, при исследовании данным методом наличия фибрин-мономеров у нашего больного с раком толстой кишки, осложненным асцитом, мы обнаружили плотное состояние (ранее выделенных по указанной методике) сгустков, практически не прозрачных в течение 36 часов. Их дальнейшее разрушение происходило в виде хлопьев. Кроме того, и желеобразные и сгусткообразные структуры исследуемой плазмы, в процессе выполнения указанной методики могут занимать совершенно разные объемы пробирки.

Так, например, эти образования могут полностью (или почти полностью), замещать исследуемый в опыте объем плазмы. Или, например, они просто могут выпадать в виде осадка на дно пробирки. Причем, выпадая в осадок на дно пробирки, указанные вещества образуют различные уровни осадка. Кроме того, данный метод дает возможность наблюдать выделение исследуемых факторов в виде образований типа «кольца» или «колец» в верхней (и гораздо реже – в нижней) части исследуемой плазмы.

Практически мы наблюдали до 20 вариантов образований различных сгустков и гелей как у доноров, так и у больных, за все время использования указанного метода определения фибрин-мономеров.

Что весьма примечательно в наших исследованиях? Это то, что гели, желеобразные образования или даже сгустки, образовывались в самое разное время – от несколько секунд до получаса. Какой же из полученных гелей, желатиноподобных образований, полуплотных, частично

плотных или полностью непрозрачных высокоплотных сгустков необходимо считать достоверным, или напротив – недостоверным? Спрашивается, что же является при использовании данной методики, позитивным или негативным результатом? Отсутствие в литературе трактовок результатов использований данного способа диагностики фибрин-мономеров, позволяет утверждать о низкой информативности указанного метода.

Третим недостатком выше изложенной методики является применение инкубации исследуемой плазмы во льду, а так же весьма большой параметр используемых температурных режимов. Напоминаем, что авторы указывают на возможность определения фибрин-мономеров как при комнатной температуре, так и при температурных режимах, составляющих от +4 до +8 градусов Цельсия. Однако, инкубация плазмы в среде тающего льда – то есть при температуре равной +4 градуса по Цельсию и/или при температуре равной +8 градусов по Цельсию, по мнению большинства отечественных и зарубежных исследователей, должна приводить к выпадению в осадок криофибриногена. Этот факт был установлен достаточно давно и описан подробно профессором Балуда В.П. Следовательно, если использовать данный метод при комнатной температуре по данной методике, можно получить одни результаты. При использовании температуры равной +4 градуса можно получить иные факты, и так далее, по мере возрастания температур. Когда же при использовании указанного метода в осадке окажутся продукты паракоагуляции, или конкретно, по мнению авторов, в осадке окажутся именно фибрин-мономеры? Об этом судить практически невозможно.

Другим достаточно часто используемым способом диагностики фибрин-мономеров является метод Ф.Брин и Ж.Тиллис, описанный в монографии Галины Васильевны Андреенко, «Методы исследования фибринолитической системы крови», опубликованной в 1981 г. Данный способ определения фибрин-мономеров осуществляется следующим образом: в пробирку при комнатной температуре помеща-

ют 0,5 мл цитратной плазмы, к ней добавляют 0,15 мл 50% этианола. Пробирка встряхивается. Включается секундомер. Реакция считается положительной, если через 1 минуту в пробирке образуется гель. Образование геля авторы метода расценивают как результат выпадения в осадок либо фибрин-мономеров, либо продуктов деградации фибриногена.

Первым недостатком данного способа диагностики фибрин-мономеров является то, что авторы сами утверждают о наличие в полученном осадке либо фибрин-мономеров, либо продуктов деградации фибриногена. Они так же не исключают наличие в осадке обоих компонентов гемостаза. Так что же образуется в этих осадках на самом деле? Ответа на этот вопрос авторы не дают.

Примечательно, что авторы расценивают реакцию положительной при образовании геля ровно через 1 минуту. В то же время, как показало продолжительное использование этой методики и большое число проведенных нами исследований, в течение первой минуты от начала реакции гель образуется только в 10-15% от всех вариантов использования этого способа. Причем, даже в этих редких случаях образуются не только разнообразные гели, но и сгустки. Изучая хронологически особенности этого метода, мы обнаружили факты образования сгустков или геля за временные промежутки от нескольких секунд до полчаса. Иными словами, если реакция образования геля специфична именно в течение первой минуты, то из-за чего он образуется и через 5, и через 10, и через 30 минут? Авторы не только не дают ответа на эти особенности осуществления реакции, но и не анализируют их. А ведь вполне логично предположить, что именно разница во времени образования сгустков или геля – может свидетельствовать о различной скорости осаждения фибрин-мономеров.

Вторым недостатком способа диагностики фибрин-мономеров является то, что авторы подчеркивают его специфичность только при образовании геля желатинообраз-

ной консистенции. Достаточно длительно используя эту методику, мы выявили, что в пробирках в равной степени могут образовываться не только желеобразные гели, но и сгустки. Эти субстраты образуются не только в различные временные промежутки, но и обладают весьма различными физическими свойствами. Например, они могут быть почти полностью прозрачными. В этой ситуации их можно было определить только в боковом свете, на фоне матовой бумаги. Они бывали ополесцирующими, или полупрозрачными, или полностью непрозрачными. При встряхивании эти субстраты могли частично разрушаться, либо лизироваться наполовину, или полностью растворяться. При их полном растворении могла возникать опалесценция исследуемой среды. Гораздо реже, после встряхивания, среда вновь становилась почти такой же прозрачной, как до начала эксперимента. Достаточно часто эти образования вообще не разрушались при встряхивании. Часто после встряхивания эти структуры выпадали в осадок на дно пробирки. Причем, варианты осаждения также были весьма различными, – от крупных хлопьев, до структур похожих на мелкий песок. Изредка вместо гелей или сгустков образовывались самые различные кольца в исследуемой среде. Иногда в самом начале реакции образующийся продукт полностью замещал весь объем исследуемой плазмы.

Когда мы попытались систематизировать, полученные в результате использования этой методики, результаты, то оказалось, что даже в плазме здорового человека существуют разнообразные по своим физическим и биохимическим свойствам структуры, образованные в процессе фибрин-мономерной полимеризации, а также различные продукты деградации фибрина-фибриногена. И все эти агенты осаждаются указанным методом. Таким образом, отдифференцировать их друг от друга практически невозможно. Иными словами, указанный способ диагностики фибрин-мономеров при всей своей простоте, доступности и дешевизне, не может использоваться для достоверного определения этих важнейших компонентов гемостаза.

С учетом всего выше изложенного мы решили создать свой способ диагностики количественного определения фибрин-мономеров, обладающий более достоверными характеристиками и аналогичными плюсами – простотой, доступностью для ургентной медицины и дешевизной. Результатом наших исследований и опытов явился изложенный ниже метод.

Подробное описание способа количественного определения фибрин-мономеров

Кровь забирается в заранее силиконированную пробирку. Силиконирование пробирки обеспечивает создание на ее поверхности отрицательного ДЗЕТА-потенциала. Этот потенциал предотвращает активизацию фактора контакта – фактора Хагемана. При активизации фактора Хагемана инициируются самые разнообразные процессы гемостаза и каллекреин-кининовой системы. Иными словами, силиконирование поверхностей пробирок или других емкостей, в которые помещается исследуемая кровь в значительной степени повышает достоверность получаемых результатов, в том числе и при использовании нашей методики определения фибрин-мономеров.

Перед помещением в пробирку исследуемой крови, в нее наливают консервант. Мы использовали для этой цели 3,8% раствор лимоннокислого натрия. Соотношение консерванта и исследуемой крови должно быть в виде 1 части консерванта и 9 частей крови. После помещения крови в пробирку с консервантом, пробирка закрывается полихлорвиниловой пробкой, обладающей по отношению к крови атравматическими свойствами. После этого, пробирка достаточно медленно переворачивается в течение 30 секунд 6-8 раз. Медленное переворачивание пробирки предотвращает образование пены. Этот момент также весьма важен. Так в процессе пенообразования происходит активизация XII-го фактора свертывания крови – фактора Хагемана. Затем пробирка центрифугируется при 1,5 тыс/об/мин. – 10 минут. Полученная плазма отбирается заранее силико-

нированной пипеткой Петри, и перемещается в другую также селиконированную пробирку. Затем к 0,2 мл плазмы добавляется 0,05 мл 50% водного раствора этанола. После этого пробирка закрывается пробкой, переворачивается 6-8 раз и центрифугируется при 8 тыс/об/мин. – 30 минут. Надосадочная жидкость убирается. Осадок – фибрин-мономеры, гидрализуется. Для этого к осадку добавляют 0,2 мл 0,1 М раствора едкого натра. После этого исследуемая среда многократно перемешивается стеклянной палочкой в течение 1 минуты. Затем пробирка (которая должна быть термоустойчивой), помещается в кипящую водяную баню на 10 минут. Перед помещением в водяную баню, пробирка плотно закрывается пробкой. После инкубации в кипящей водяной бане, пробирка переставляется в обычный штатив. К исследуемой среде добавляется 6,0 мл 12,5% раствора Na_2CO_3 , перемешивают, и к исследуемой жидкости добавляют 1,0 мл 0,01 М раствора Cu_2SO_4 . После этого исследуемую жидкость вновь перемешивают и инкубируют при комнатной температуре 10 минут. После чего к жидкости добавляется 1,0 мл раствора Фолина-Чикалто, разбавленного 1:2 дистиллированной водой. Жидкость вновь перемешивается и инкубируется 30 минут при комнатной температуре. Затем определяют величину экстинции. Для определения экстинции можно использовать как обычные фотоэлектролориметры, так и спектрофотографы, или спектрофотометры.

После получения величины экстинции определяют количественное содержание фибрин-мономеров. Для этого определения используется следующая формула:

$$\Phi - M = 0,012 \times e^{0,875(X-0,5)} - \frac{0,05}{1 + 0,8 \times X^2} + 0,044$$

Где: $\Phi - M$ – количество фибрин-мономеров в граммах на литр исследуемой плазмы.

X – величина полученной экстинции.

0,012 – «постоянная» перевода экстинции исследуемой плазмы в граммы $\Phi - M$.

e – основание натурального логарифма.

Формула расчета количества фибрин-мономеров в исследуемой плазме получена в результате аппроксимирования полиномами Чебышева методом наименьших квадратов, по биологической программе.

В результате проведенных исследований оказалось, что в плазме, полученной из кубитальной вены у обследованных нами здоровых лиц, содержится $0,81 \pm 0,008$ г/л фибрин-мономеров. Напротив, использование метода Ф.Брин и Ж.Тиллис показало, что у здоровых людей, – фибрин-мономеры практически отсутствуют в венозной плазме, изъятой из кубитальной крови. Последнее противоречит общизвестным фактам.

ГЛАВА 2

Способ количественного определения растворимого фибрина

Открытая публикация сведений, изложенных в заявлении на изобретение «Способ количественного определения растворимого фибрина № 3848974/14, РАЗРЕШЕНА ВНИИГПЭ

В отечественной и зарубежной литературе, начиная уже с 70-х годов, появилось большое количество публикаций, указывающих на значительное повышение содержания растворимого фибрина при процессах торможения фибринолиза, при предромботических состояниях, а также при диссеминированном внутрисосудистом свертывании крови.

Тогда же в 70-е годы появились разнообразные методы определения растворимого фибрина. Например, с тех пор в гемостазиологической практике достаточно часто используется метод количественного определения растворимого фибринов, предложенный Стакурска с соавторами. Он подробно описан в монографии Г.В. Андреенко «Методы исследования фибринолитической системы крови» (1981г.).

Данный способ осуществляется следующим образом: к 0,5 мл плазмы добавляют 0,1 мл 4% раствора протаминсульфата в 0,15 М растворе NaCl. Проба центрифугируется при 3тыс/об/мин., к полученному осадку добавляют 2,0 мл 0,3 М раствора NaCl, содержащего 0,7% лимоннокислый натрий, и инкубируют 10 минут. Затем жидкость центрифугируется при 3тыс/об/мин. Полученный осадок дважды промывают 2,0 мл раствора NaCl с цитратом натрия, к которому добавлен гепарин – 0,5 мг/мл. Затем жидкость вновь центрифугируют 10 минут при 3тыс/об/мин. Осадок растворяют в 3,0 мл 40% мочевины в 0,2 М растворе NaOH. Содержание растворимого фибринов определяют на спектрофотометре по эмпирической таблице. Согласно данным авторов нормальные значения растворимого фибринов составляют у взрослых до 10 мг%, и у детей – до 5 мг%.

По нашему мнению, данный способ имеет ряд недостатков. Так, например, инкубирование осажденного протамин-сульфатом растворимого фибринов в растворе лимоннокислого натрия с гепарином способствует разрушению растворимого фибринов на молекулы других комплексов. Это происходит вследствие того, что гепарин является мощным стимулятором фибринолиза, способствует размягчению тромба, препятствует переходу фибриногена в фибрин, лизирует не стабилизированные сгустки. Кроме того, гепарин блокирует превращение растворимого фибринов в сгустки. Эти свойства гепарина были описаны еще в 1977г. Чазовым Е.И. и Лакиным К.М. в монографии «Антикоагулянтные и фибринолитические средства». Таким образом, применение инкубации гепарином в растворе лимоннокислого натрия может приводить к разрушению растворимого

фибринов, или к нарушению процессов выпадения растворимого фибринов в осадок. Иными словами, при использовании данной методики определяется не только растворимый фибрин, но и остатки разрушенного растворимого фибринов, а так же выявляются полностью или частично лизированные гепарином фибрин-мономеры, фибриноген и их различные комплексы.

Во-вторых, практически всем гемостазиологам известно, что гепарин и протаминсульфат являются конкурирующими антагонистами. Таким образом, инкубирование осадка с гепарином, с последующим двухкратным отмыванием, ведет к тому, что осажденный протамин-сульфатом растворимый фибрин вымывается из осадка. Вследствие этого экспериментатор получает искаженные сведения. Так как совершенно не ясно, сколько растворимого фибринов вымылось гепарином из исследуемого осадка.

Суммируя все выше сказанное, можно заключить, что данный способ имеет весьма низкую достоверность.

Другим методом, применяемым достаточно часто до сих пор, является протаминсульфатный тест Б. Липински и К. Воровски, описанный В.П. Балуда в монографии «Лабораторные методы исследования системы гемостаза», изданной еще в 1980 году. Этот тест осуществляется следующим образом: кровь набирают в пробирку с цитратно-АКК раствором (АКК – эпсилонаминокапроновая кислота), в соотношении 9:1. Кровь центрифугируют при температуре равной +2 – +4 градуса по Цельсию в течение 5 минут при 1,5тыс/об/мин. К 0,4 мл охлажденной плазмы добавляют 0,1 мл 1% раствора протаминсульфата. Содержимое пробирки встряхивают или перемешивают и помещают на 10-30 минут в водянную баню. При положительных результатах в плазме появляется сгусток или гель. Хлопья, зернистость или замутнение плазмы не учитываются как позитивный результат.

Одним из недостатков данного теста определения растворимого фибринов является «визуальный» способ оценки результатов – по степени выпадения растворимого фибринов.

рина в осадок. Наш опыт работы с этим тестом показывает, что визуальная оценка реакции выпадения растворимого фибринова в осадок, является крайне субъективной и имеет большой процент допущений и ошибок.

Например, возможны следующие ситуации:

1. Сгусток образуется различной плотности, прозрачности и устойчивости. Он может быть плотным, непрозрачным, полностью нерастворимым при встряхивании, или прозрачным, но нерастворимым, или плотным, но растворимым, и так далее.

2. Варианты проявления этого теста могут быть совершенно различными. Это может быть сгусток, гель, замутнение плазмы, хлопья, нити, крупные и мелкие «крошки».

3. Сгустки, гели, хлопья, «крошки» и другие образования могут быть в любом количестве – от минимального до большого. Эти образования могут занимать различные объемы исследуемой плазмы, занимая все пространство или небольшую часть объекта. Эти структуры могут принимать форму колец или протуберанцев, различной величины и расположенных на разных уровнях исследуемого объекта. Полученные образования могут быть очень устойчивыми или мгновенно разрушаться при малейшем сотрясении.

Другим недостатком этого протаминсульфатного теста является применение в качестве стабилизатора эпсилонаминокапроновой кислоты. Общеизвестно, что эпсилонаминокапроновая кислота угнетает первичный и вторичный фибринолиз. Об этом свойстве можно прочесть, например, в указанной нами ранее монографии Е.И. Чазова и К.М. Лакина «Антикоагулянты и фибринолитические средства». В тоже время, так же широко известно, что растворимый фибрин образуется именно при активизации вторичного фибринолиза. Например, на фоне текущего тромбообразования. Иными словами, применение в качестве стабилизатора плазмы эпсилонаминокапроновой кислоты должно блокировать образование растворимого фибринова. Именно такая возможность часто приводит к тому, что протаминсульфатный

тест дает отрицательный результат, а другие методы могут показать высокое содержание растворимого фибринова. Этую ситуацию мы неоднократно наблюдали даже у больных с текущим тромбообразованием.

Кроме того, применение в процессе выделения растворимого фибринова инкубации плазмы при температуре +2 – +4 градуса по Цельсию, может приводить к осаждению криоглобулинов, например, – криофибриногена. Это также является широко известным фактом.

Таким образом, протаминсульфатный тест имеет очень большое количество серьезных недостатков. И, несмотря на это, он до сих пор имеет широкое клиническое применение в ургентной практике.

Все вышеизложенное обусловило целесообразность разработки нового доступного клиницистам и одновременно точного метода количественного определения растворимого фибринова.

Данную задачу мы решили следующим образом.

Подробное описание способа количественного определения растворимого фибринова

Кровь забирается в силиконированную пробирку с заранее налитым в нее 3,8% лимоннокислым натрием. Соотношение крови и консерванта должно составлять 9 : 1. Пробирка закрывается полихлорвиниловой пробкой и относительно медленно переворачивается 6-8 раз в течение 30 секунд. Следует избегать образования пены. После этого пробирка центрифугируется при 1,5тыс/об/мин. – 10 минут. Плазму отбирают силиконированной пипеткой Петри. В количестве 0,2 мл полученная плазма помещается в силиконированную центрифужную пробирку. Там к ней добавляется 0,05 мл 1% протаминсульфата. Затем проба центрифугируется при 8 тыс/об/мин. – 30 минут. Надосадочная жидкость убирается. Осадок – растворимый фибрин гидролизуется. Для этого в пробирку помещается 0,2 мл 0,1 М раствора едкого натра. Пробирка должна быть

термоустойчивой, так как она в дальнейшем помещается в кипящую водяную баню на 10 минут. Пробирка перед помещением в водяную баню должна быть плотно закрыта пробкой. После термической обработки пробирка помещается в обычный штатив. В нее помещают 6,0 мл 12,5% раствора Na_2CO_3 . Жидкости перемешивают и добавляют к исследуемой среде 1,0 мл 0,01 М раствора Cu_2SO_4 . Равновесие вновь перемешивают и инкубируют при комнатной температуре в течение 10 минут. После чего, к исследуемому объекту добавляют 1,0 мл раствора Фолина-Чикалто, разбавленного 1:2 дистиллированной водой. Жидкости вновь перемешивают и инкубируют при комнатной температуре 30 минут, после чего определяют величину экстинции изучаемого объекта. Для определения экстинции можно пользоваться как обычными фотоколориметрами, так и спектрографами, или спектрофотометрами.

Для перевода полученных значений экстинции в цифры, характеризующие содержание растворимого фибринина в граммах на литр исследуемой плазмы, используют следующую формулу:

$$P - \Phi = 0,027(e^{0,63 \times X} - 1)$$

Где: $P - \Phi$ – количество растворимого фибринина в граммах на литр плазмы.

X – величина полученной экстинции.

e – основание натурального логарифма.

0,027 – «постоянная» перевода экстинции исследуемой плазмы в граммы растворимого фибринина на литр исследуемой плазмы.

Формула расчета растворимого фибринина получена в результате аппроксимирования полиномами Чебышева методом наименьших квадратов по биологической программе.

В результате применения данного способа количественного определения растворимого фибринина мы обнаружили,

что в плазме крови, изъятой из кубитальной вены у практически здоровых людей, количество растворимого фибринина составляет $0,72 \pm 0,007$ грамм/литр. Параллельно проводя исследование растворимого фибринина с помощью метода Б.Липински и К.Воровски, мы выяснили, что он практически не определяется в венозной крови практически здоровых лиц. Последнее полностью противоречит общепринятым фактам.

ГЛАВА 3

Способ определения активности тромбоксанов

*Открытая публикация сведений, содержащихся в заявлении на изобретение «Способ определения активности тромбоксанов», № 3854788/14,
РАЗРЕШЕНА ВНИИГПЭ*

Ранее мы неоднократно описывали весьма значительную роль тромбоксанов в осуществлении различных гемостазиологических реакций у здоровых людей. Так, например, известно, что тромбоксаны являются не только мощными тромбофильическими факторами, но и одними из самых сильных вазоконстрикторов (Chevalier D., et al., 2001). Кроме того, с момента их открытия, многочисленные исследования указывают на их непосредственное участие в разнообразных гуморальных реакциях (Rosskopf D., 1999, Leese P.T., et al., 2000, Soslau G., et al., 2000). Одновременно с этим, как в отечественной, так и в зарубежной литературе многократно подчеркивается тот факт, что своевременное определение повышенной активности тромбоксанов позволяет диагностировать различные танатогенные осложнения, например, – тромбофилю. Поэтому, методы, позволяющие с высокой степенью достоверности оценивать активность данных простагландинов, вызывают боль-

шой интерес не только у гемостазиологов, но и у практических клиницистов.

Оценить тромбоксановую активность пытались неоднократно. Например, с учетом того, что эти вещества очень «краткоживущие», их активность пытались оценить по содержанию продуктов образующихся в результате их скоротечного разрушения. Одним из таких продуктов является малоновый диальдегид. Именно данный факт лег в основу методики изучения тромбоксанов, разработанной Смитом. Этот метод был опубликован еще в 1981 году в методических рекомендациях «Оценка антиагрегатной активности лекарственных средств», изданных в Москве. Основной идеей методики было следующее положение: так как появление малонового диальдегида обусловлено перикисным окислением тромбоксанов, то по уровню малонового диальдегида можно судить об их активности. Примечательно, что данное положение используется до сих пор. Этот факт неоднократно регистрировался нами, даже в самых последних работах, опубликованных в конце 90-х годов.

Данный метод осуществляется следующим образом: кровь забирается из сосуда в пробирку с 3,8% лимоннокислым натрием в соотношении 1 часть лимоннокислого натрия к 9 частям крови. Пробирка переворачивается несколько раз. Кровь центрифигируют для получения нативной плазмы, при режиме 1тыс/об/мин. – 10 минут. Полученную плазму центрифигируют 25 минут при 3тыс/об/мин. для осаждения тромбоцитов. Надосадочный слой удаляется. Осадок тромбоцитов ресуспензируют в фосфатном буфере для получения рабочей суспензии клеток в концентрации: $1,5 - 2,0 \times 10^{11}$ тромбоцитов в литре. Затем, 1,8 мл рабочей суспензии клеток инкубируют при 37 градусах по Цельсию с 0,2 мл раствора тромбина. Раствор тромбина приготавливают с тем расчетом, чтобы 0,06 мл раствора тромбина свертывало 0,2 мл оксалатной крови за 20 секунд. После добавления раствора тромбина в ресуспензированый субстрат, его начинают перемешивать. В про-

цессе перемешивания тромбоциты под влиянием тромбина начинают агрегировать. Реакцию агрегации останавливают добавлением 2,0 мл 2,3% HClO_4 , содержащей 0,53% тиобарбитуровой кислоты. Затем смесь нагревают на кипящей водяной бане в течение 15-20 минут. После этого субстрат охлаждается при комнатной температуре и в дальнейшем центрифигируется при 3 – 4 тыс/об/мин. в течение 25-30 минут, до полного просветления раствора. Надосадочную жидкость отбирают и спектрофотометрируют при длине волны 532 нм. Молярный коэффициент экстинкции малонового диальдегида составляет: МДА = $1,37 \times 10^5$. Содержание малонового диальдегида (МДА), выражается в моль/литр.

Однако этот способ имеет ряд недостатков. Так, например, еще в 1984 году О.Е. Колесова с соавторами в статье «Перикисное определение липидов и методы определения продуктов липопероксидации в биологических средах», опубликованной в 9 номере журнала «Лабораторное дело», доказали тот факт, что малоновый диальдегид может метаболизироваться как митохондриями, так и микросомами. Они же показали, что его содержание напрямую зависит от интенсивности данного метаболизма. Одновременно с этим, в своей монографии «БИОЛОГИЯ», опубликованной еще в 1975 году К.Вилли и В. Детье описали тот факт, что метаболизм митохондрий и микросом зависит от самых различных факторов, и меняется даже в норме в очень широких пределах. Иными словами, даже в физиологических условиях у совершенно здоровых людей содержание малонового диальдегида может резко меняться, из-за различной физиологической активности метаболических процессов в микросомах и митохондриях.

Кроме того, тогда же в 1984 году О.Е.Колесова с соавторами (см. ранее указанный источник), выявили способность малонового диальдегида образовывать различные комплексы с аминосодержащими соединениями. То есть, при использовании метода Смита мы получаем в конечном результате не только информацию об уровне содержа-

ния малонового диальдегида в исследуемой среде, но и одновременно с этим имеем информацию о содержании в этой же среде его комплексов с аминосодержащими соединениями. Это совершенно нивелирует достоверность данной методики.

Опять же О.Е. Колесова и ее соавторы в той же работе обнаружили еще один важнейший факт. Эта информация указывала на наличие различной стехиометрии образования малонового диальдегида. Так, например, по данным этих авторов в одних случаях на каждую молекулу малонового диальдегида приходилось 40 молекул кислорода, в других случаях – 20 молекул кислорода. Кроме того, зарегистрированы ситуации когда на 1 молекулу малонового диальдегида приходилось 10 молекул ненасыщенных жирных кислот, в других случаях на эту молекулу приходилось до 16 молекул ненасыщенных жирных кислот. Иными словами, концентрация малонового диальдегида может не коррелировать с липопероксидацией, и как следствие всего выше изложенного – концентрация малонового диальдегида никак не может отражать истинную активность тромбоксанов.

Другим, достаточно часто применяемым, способом диагностики тромбоксановой активности является метод «спектрометрического определения содержания гидроперикисей липидов в плазме крови». Весьма примечательно то, что хотя этот способ был описан еще в 1983 году В.Б. Гавриловым и М.И.Мишкорудной в 3 номере журнала «Лабораторное дело», он до сих пор имеет весьма большое применение.

Принцип метода основан на интенсивном поглощении конъюгированных диеновых структур гидроперикисей в области 232-234 нм. Данный способ осуществляется следующим образом: кровь забирается из вены в пробирку. К ней добавляется ЭДТА, из расчета 1мг на 1,0 мл крови. Получают плазму. К 0,2 мл плазмы добавляют 4,0 мл смеси гептан-изопропанол (1:1), и встряхивают пробирку в течение

10-15 минут. Далее в пробирку добавляют 1,0 мл раствора HCl с pH = 2,0 и 2,0 мл гептана. После чего пробирку интенсивно встряхивают. Затем через 20-30 минут после расслоения смеси отбирают гептановый слой, в котором измеряют активность диеновых коньюгатов при длине волны равной 233 нм. В качестве контроля используют образец, содержащий вместо плазмы 0,2 мл воды и подвергнутый всем перечисленным ранее видам обработки.

Расчет содержания гидроперикисей липидов производят в относительных единицах (формула расчета описана в ранее указанном источнике). Так как, по мнению авторов, появление гидроперикисей липидов является следствием перикисного окисления арахидоновых кислот, то гидроперикиси липидов могут указывать на активность тромбоксанов.

Однако, этот метод имеет также ряд недостатков. Так, например, многократное интенсивное встряхивание является мощным механическим агентом, способствующим развитию вязкого метаморфоза тромбоцитов. Появление вязкого метаморфоза тромбоцитов является одним из следствий активизации тромбоксановой системы. То есть, такое встряхивание травмирует среду, искусственно повышая в ней уровень тромбоксановой активности. Это искажает конечный результат. Однако, гораздо более важным контраргументом для применения этого способа, как метода оценки тромбоксановой активности, является то, что гидроперикиси липидов не являются специфическим продуктом пероксидации тромбоксанов. Гидроперикиси липидов образуются в результате самых различных арахидоновых каскадов. Например, в результате физиологического разрушения простатицилина или лейкотриенов. Данные факты приводились нами неоднократно в предыдущих главах.

Все выше сказанное обусловило необходимость разработки нового эффективного метода оценки тромбоксановой активности. Разрешить эту задачу мы попытались следующим образом.

Подробное описание способа определения активности тромбоксанов

Кровь забирается в силиконированную пробирку с заранее помещенным в нее 3,8% лимоннокислым натрием. Соотношение крови и консерванта должно быть 9:1. После этого пробирка закрывается полихлорвиниловой пробкой и относительно медленно переворачивается 6-8 раз в течение 30 секунд. Такой режим переворачивания исключает возможность образования пены. Силиконовая поверхность и отсутствие пенообразования необходимы для предотвращения возможной активизации фактора Хагемана. Затем пробирка центрифугируется при 1тыс/об/мин в течение 10 минут. Силиконированной пипеткой Петри плазма отбирается в другую так же силиконированную емкость. Далее 0,4 мл полученной плазмы помещают в кювету агрегометра. Затем в кювету опускают стержень мешалки и вводят 0,025 мл раствора АДФ (аденозиндифосфата). Данный раствор АДФ приготовляется следующим образом: 1мг АДФ растворяется в 340 мл физиологического раствора. Применение таких соотношений плазмы и АДФ вызывают пороговую индукцию агрегации. После добавления раствора АДФ записывается первая агрегатограмма. В другую кювету также вводится 0,4 мл плазмы и 0,025 мл второго раствора АДФ. Этот второй раствор АДФ готовится следующим образом: 1мг АДФ растворяется в 1360 мл физиологического раствора. Использование таких соотношений плазмы и второго раствора АДФ вызывает подпороговую индукцию агрегации тромбоцитов. Далее записывается вторая тромбоцитарная агрегатограмма.

После окончания записи тромбоцитарных агрегатограмм, внутренние части графиков вырезаются и взвешиваются. После этого определяется активность тромбоксанов – А–Т, по следующей формуле:

$$A-T = \frac{(x-y)}{x} \times 100 \text{ Y.E.}$$

где: x – вес графика агрегатограммы с пороговой индукцией аденоzinдифосфатом,
 y – вес графика агрегатограммы с подпороговой индукцией аденоzinдифосфатом,
100 – коэффициент перевода активности тромбоксанов в условные единицы (УЕ).

Согласно нашим данным активность тромбоксанов в плазме крови, забранной из кубитальной вены у практически здоровых людей, составляла $24,12 \pm 1,15$ УЕ и была одной из самых низких по сравнению с другими сосудистыми регионами. В тоже время активность гидроперикисей липидов у здоровых людей в плазме, взятой из кубитальной вены, была одной из самых больших, по сравнению с другими сосудистыми регионами и равнялась $2,178 \pm 0,023$ диеновых коньюгатов. Этот факт подтверждал многочисленные литературные данные о том, что гидроперикиси липидов не являются продуктами распада только тромбоксанов, но и массы других биохимических соединений.

ГЛАВА 4 **Новые диагностические возможности метода дифференцированной тромбоэластографии**

Следует подчеркнуть, тот факт, что описанные различными авторами, и в первую очередь Раби К. (1974 г.), приемы дифференцированной тромбоэластографии и на сегодняшний день помогают универсально ориентироваться во множестве сложных изменений гемостаза (Frumento R.J., et al., 2002).

Для более глубокой оценки кинетики свертывания и

противосвертывания мы предлагаем собственный тромбоэластографический метод оценки этих процессов, включающий в себя следующие приемы. **Собственные методы выделены жирным шрифтом.**

После записи тромбоэластограмм с цельной кровью, нативной (тромбоцитарной) и с бестромбоцитарной плазмой, графики тромбоэластограмм вырезаются и взвешиваются. Затем, производится вычисление потенциальной активности тромбоцитов (**ПКАТ**), антикинетической активности эритроцитов (**АКАЭ**), и фактической кинетической активности тромбоцитов (**ФКАТ**), по следующим формулам:

1. Определение потенциальной кинетической активности тромбоцитов (**ПКАТ**).

Формула:

$$ПКАТ = \frac{(б - в) \times 100}{б} У.Е.$$

где *б* — вес графика ТЭГ с тромбоцитарной плазмой,

в — вес графика ТЭГ с бестромбоцитарной плазмой.

2. Определение антикинетической активности эритроцитов (**АКАЭ**).

Формула:

$$АКАЭ = \frac{(б - а) \times 100}{б} У.Е.$$

где *б* — см. выше,

а — вес графика ТЭГ с цельной кровью.

3. Определение фактической кинетической активности тромбоцитов (**ФКАТ**).

Формула:

$$\PhiКАТ = \frac{(а - в) \times 100}{б} У.Е.$$

где *а* и *в* см. выше.

В физиологических условиях при записи ТЭГ (с кровью, нативной и бестромбоцитарной плазмой), в течение 20—30 минут колебания писчика тромбоэластографа достигают своего максимума, после чего максимальная амплитуда колебаний писчика (*Ма*) стабилизируется и остается без существенных перемен до нескольких часов, по истечении которых начинается фибринолиз и колебания писчика тромбоэластографа начинают уменьшаться.

Нам удалось выявить прямую закономерность: у лиц, страдающих различными заболеваниями сердечно-сосудистой системы, при наличии активизированной системы неферментативного фибринолиза (по нашим биохимическим данным — Воробьев В.Б., докторская диссертация, 1995 г.), графика тромбоэластограмм существенно меняет свою конфигурацию. А именно, после достижения *Ма*, размахи писчика тромбоэластографа начинают прогрессивно уменьшаться до определенного минимума — *Ма₂*. Наличие такой полной корреляции между биохимическим свидетельством активизации систем неферментативного фибринолиза и возможным проявлением деятельности этих систем в момент записи ТЭГ заставили нас произвести попытку оценки активности неферментативного фибринолиза по интенсивности снижения *Ма₁* ТЭГ до стабилизации размахов писчика в виде *Ма₂*. Таким образом, мы можем предложить ряд расчетов ТЭГ для оценки интенсивности и особенностей реакций неферментативного фибринолиза:

Примечание: все расчеты можно осуществлять лишь после стабилизации *Ма₂*. Для синхронизации расчетов время записи графической части ТЭГ должно быть одинаковым.

Для наглядности приводится следующий график ТЭГ (рис. 16).

1. Определение общей активности неферментативного фибринолиза (**ОАНФ**).

Формула:

$$OAHF = \frac{(X_1 + X_2) \times 100}{X_1 + X_2 + Y} Y.E.$$

где X_1 и X_2 — зоны лизиса сгустка, измеряемые весом данной части графика ТЭГ;

Y — не лизируемая зона сгустка, измеряемая весом данной части графика ТЭГ.

Пояснение — **ОАНФ** определяется по графикам ТЭГ, записанным с цельной кровью.

2. Определение тромбоцитарно-плазменной активности неферментативного фибринолиза (**Т-П АНФ**).

Формула: см. выше пункт 1.

Пояснение — **Т-П АНФ** определяется по графикам ТЭГ, записанным с тромбоцитарной плазмой.

3. Определение потенциальной плазменной (тромбоцит-эритроцит-независимой) активности неферментативного фибринолиза (**ПП Т-Э-Не АНФ**).

Формула: см. выше пункт 1.

Пояснение — **ПП Т-Э-Не АНФ** определяется по графикам ТЭГ, записанным с бестромбоцитарной плазмой.

4. Определение тромбоцитарной активности неферментативного фибринолиза (**Т АНФ**).

Формула:

$$T AHF = (T-P AHF) - (PP T-E-Ne AHF) = YE.$$

5. Определение эритроцитарной активности неферментативного фибринолиза (**Э АНФ**).

Формула:

$$E AHF = (O AHF) - (T-P AHF) = YE.$$

6. Фактическая плазменная (тромбоцит-эритроцит-независимая) активность неферментативного фибринолиза (**ФП Т-Э-Не АНФ**).

Формула:

$$FP T-E-Ne AHF = (O AHF) - (PP T-E-Ne AHF).$$

ГЛАВА 5

Новые приемы анализа состояния гемостаза с использованием приоритетных методов расшифровки электрокоагулограмм

Для клинического исследования гемостаза применяются разнообразные методики и приборы, однако именно электрокоагулография получила наиболее широкое распространение в практической медицине. Это обусловлено как простой, так и достаточно высокой эффективностью данной методики. Однако, существующие приемы расшифровки и трактовки электрокоагулограмм не дают возможности максимального использования указанного метода оценки состояния гемостаза. В то же время электрокоагулография имеет еще много скрытых возможностей анализа тонких механизмов осуществления гемостазиологических реакций.

Так как метод электрокоагулографии основан на измерении электропроводности крови в течение процесса ее свертывания, то он в первую очередь отражает динамику изменения величины Дзета-потенциала исследуемой биологической жидкости. Совокупная величина Дзета-потенциала крови зависит в первую очередь от суммы Дзета-потенциалов форменных элементов крови, белков, липопротеидов и их разнообразных комплексов. Таким образом, приступая к анализу электрокоагулограмм, надо обязательно иметь в виду, что радиальные показатели

графиков электроагуляграмм в первую очередь описывают состояние электропроводности и соответственно уровня Дзета-потенциала исследуемой биологической жидкости (в строго определенный временной промежуток процесса свертывания). В то же время, большинство руководств, посвященных исследованию гемостаза с использованием электроагуляграфии, не только опускают эту электрофизиологическую особенность электроагуляграмм, но даже пытаются связать данную функцию с гематокритом. Так, например, в монографиях Балуды В.П. и соавторов (1980 г.), и Иванова Е.П. (1983 г.) показатель электроагуляограммы — максимальная амплитуда А_м соотносится с показателями гематокрита исследуемой крови. Причем, авторами приводятся коррелятивные соотношения между величиной А_м и гематокритом. Однако, во-первых, выражение гематокрит в первую очередь означает прибор для определения гематокритного числа. Во-вторых, гематокритное число является отношением объема форменных элементов крови к объему плазмы. Спрашивается, если мы записываем электроагуляограмму с плазмой, лишенной форменных элементов крови, то каким образом мы должны вычислять гематокрит?

Все это обусловило целесообразность разработки новых приоритетных приемов оценки состояния гемостаза по данным электроагуляграфии. Ниже приводятся как общепринятые, так и собственные методы расшифровки электроагуляграмм (**собственные методы выделены жирным шрифтом**).

Графическое изображение электроагуляограммы представлено на рис. 17.

Ниже представлены показатели электроагуляграмм, включая и впервые предложенные нами, (**эти показатели выделены жирным шрифтом**):

1. Т₁ — время от начала записи до первого колебания с уменьшенной амплитудой. Совпадает с первой невидимой фазой свертывания крови. Время Т₁ отражает скорость появления тромбопластина.

2. Т — время от первого колебания с уменьшенной амплитудой до первого колебания с минимальной амплитудой. Соответствует второй, видимой фазе свертывания крови, при которой сгусток уже образовался. Время Т соответствует скорости образования фибриновых нитей (при полимеризации фибрин-мономерных молекул). Время Т зависит от количества фибриногена, тромбина и фибрин-стабилизирующего фактора (фибриназы), а также от их физиологической активности.

3. Т₂ — соответствует времени свертывания крови, установленному по Ли-Уайту. Отражает продолжительность первых двух фаз свертывания крови.

4. Т₃ — время начала ретракции и фибринолиза. Фиксирует время от начала исследования до первого колебания с увеличенной амплитудой, возникшей после достижения минимальной амплитуды.

5. Т₄ — время ретракции и фибринолиза. Время от начала ретракции и фибринолиза до достижения максимальности этих процессов.

6. Т₁/Т — константа использования тромбопластина при образовании тромбина. Отражает интенсивность образования тромбина.

7. А_м — максимальная амплитуда колебаний в самом начале записи электроагуляограммы.

8. А_о — характеризует максимальную плотность сгустка. Чем показатель меньше, тем выше плотность сгустка.

9. Е — эластичность сгустка. Определяется по формуле:

$$\frac{100 \times (A_m - A_o)}{100 - (A_m - A_o)} Y.E.$$

Данный показатель отражает упруго-вязкие свойства сгустка.

10. **Константа L** — вычисляется по формуле:

$$\frac{E}{T}$$

Эта константа отражает совокупность динамических и хронометрических процессов полимеризации молекул фибринина и их контрактильных свойств.

11. **A₁** — соответствует количеству жидкости, выделенной в процессе ретракции и фибринолиза.

12. **Константа ФА** — вычисляется по формуле:

$$\frac{A_1 \times 100}{A_m} \text{ Y.E.}$$

Данная константа отражает фибринолитическую активность крови или плазмы (ФА)

13. **A₂** — этот показатель отражает интенсивность ретракции сгустка (чем она меньше, тем более выражены ретрактивные свойства сгустка).

14. **Константа ИФАиР** — определяется по формуле:

$$\frac{A_1 - A_0}{T_4} \times 100$$

Эта константа описывает интенсивно-временные процессы фибринолиза и ретракции. Аббревиатура **ИФАиР** означает — интенсивность фибринолитической активности и ретракции.

15. **Константа K** — определяется по формуле:

$$\frac{A_m - A_2}{A_2} \times 100 \text{ Y.E.}$$

Аббревиатура **K** означает максимально выраженные контрактильные свойства исследуемого сгустка, возникающие в момент наивысшей точки ретракции.

16. **Угол альфа** — угловая константа, отражает динамику осуществления первой и второй фаз свертывания.

17. **Угол бета** — угловая константа, отражает динамику осуществления второй фазы свертывания.

18. **Угол сигма** — угловая константа, отражает динамику осуществления ретракции и фибринолиза.

Как известно, в подавляющем большинстве случаев, запись электрокоагулограмм осуществляется с цельной кровью. Это существенно снижает возможности метода. Так как при таком способе записи возможно оценить только процессы свертывания, ретракции и фибринолиза в цельной крови. При этом исключается оценка состояния гемостазиологической активности, как форменных элементов крови, так и плазменных компонентов гемостаза. Это и побудило нас разработать методы дифференцированной расшифровки электрокоагулограмм.

Для осуществления поставленной задачи проводилась запись электрокоагулограмм с цельной кровью, тромбоцитарной плазмой и плазмой, лишенной форменных элементов крови (чаще всего для ее обозначения применяется термин — бестромбоцитарная плазма). Сравнение графиков электрокоагулограмм с цельной кровью, тромбоцитарной и бестромбоцитарной плазмой, позволило разработать несколько новых методов оценки состояния гемостаза (которые излагаются ниже).

Методы расшифровки дифференцированных электрокоагулограмм (ДЭКГ)

Так как электрокоагулограмма представляет собой график сложной конфигурации, то для ее дифференцированной расшифровки мы использовали следующий прием. Наружная зона графика, не заштрихованная самописцем, ограниченная кривой электрокоагулограммы от точки начала измерения Т и до точки измерения Ao (с одной стороны), и ограниченная пересечением двух линий в виде катетов треугольника, с другой стороны копировалась на кальку. За-

тем эта зона вырезалась и взвешивалась. После этого приступали к оценке ДЭКГ:

1. Определение потенциальной кинетической активности тромбоцитов (**ПКАТ**).

Формула:

$$ПКАТ = \frac{(б - в) \times 100}{б} \text{ у.е.}$$

где $б$ — вес графика электрокоагулограммы с тромбоцитарной плазмой,

$в$ — вес графика электрокоагулограммы с бесстомбоцитарной плазмой.

2. Определение антикинетической активности эритроцитов (**АКАЭ**).

Формула:

$$АКАЭ = \frac{(б - а) \times 100}{б} \text{ у.е.}$$

где $б$ — см. выше,

$а$ — вес графика электрокоагулограммы с цельной кровью.

3. Определение фактической кинетической активности тромбоцитов (**ФКАТ**).

Формула:

$$ФКАТ = \frac{(а - в) \times 100}{б} \text{ у.е.}$$

где $а$ и $в$ — см. выше.

В результате применения указанных методов и приемов исследования гемостаза с помощью дифференцированной тромбоэластографии (при использовании для исследований венозной кубитальной крови, тромбоцитарной и бесстомбоцитарной плазмы, у обследованных нами

практически здоровых людей), мы получили следующие факты:

В первую очередь, следует отметить, что при фазовом анализе электрокоагулограмм, полученных в результате исследования как цельной крови, так и тромбоцитарной плазмы, выявлено следующее. В частности, первая фаза свертывания в цельной крови была в 2 раза длиннее по сравнению с тромбоцитарной плазмой. Это указывало на более медленное образование тромбопластина в цельной крови. Продолжительность второй фазы (времени полимеризации фибринса) была на 35% больше в цельной крови по сравнению с тромбоцитарной плазмой. Константа использования протромбина тромбопластином составила в цельной крови $0,987 \pm 0,012$ у. е., по сравнению с $0,827 \pm 0,046$ у. е. в тромбоцитарной плазме. Относительное повышение этого показателя в цельной крови подтверждало умеренное усиление синтеза тромбина в цельной крови, по сравнению с тромбоцитарной плазмой. В тоже время, структурный анализ выявил следующие различия. Максимальная амплитуда электрокоагулограммы была на 40% ниже в цельной крови по сравнению с показателями электрокоагулограмм, записанных с тромбоцитарной плазмой. Это свидетельствовало об относительно меньшей вязкости тромбоцитарной плазмы по сравнению с цельной кровью. На факт формирования в цельной крови более плотных кровяных сгустков указывало увеличение минимальной амплитуды электрокоагулограммы, записанной с цельной кровью, и показателя эластичности сгустка, по сравнению с аналогичными показателями электрокоагулограмм, записанных с тромбоцитарной плазмой. Одновременно с этим, в цельной крови практически здоровых людей отмечалось снижение константы L на 71% по сравнению с тромбоцитарной плазмой. Это свидетельствовало об относительном снижении в цельной крови как динамических, так и хронометрических процессов полимеризации фибринса и их контрактильных свойств, по сравнению с аналогичными показателями в тромбоцитарной плазме. Скорость свертывания

так же оказалась меньше в цельной крови. За первую минуту она была нулевой по сравнению с $0,95\pm0,004$ см/мин в тромбоцитарной плазме. Скорость свертывания за третью минуту была замедлена в цельной крови в 2,5 раза по сравнению с тромбоцитарной плазмой. Коагуляционная активность цельной крови была ниже в 1,5 раза, чем в тромбоцитарной плазме. О более низкой динамике свертывания цельной крови свидетельствовало снижение $\angle\alpha$ на 40% и $\angle\beta$ на 20% по сравнению с тромбоцитарной плазмой. Таким образом, процесс свертывания в цельной крови протекал значительно медленнее, чем в тромбоцитарной плазме. Однако, наряду с этим нами была выявлена в цельной крови определенная тенденция к усилению синтеза тромбина. Так, цельная кровь изначально была более вязкой, и образующийся в ней сгусток имел более плотный характер по сравнению с тромбоцитарной плазмой. Исходя из вышеизложенного, можно вновь сделать вывод о наличии у эритроцитов значительных противосвертывающих свойств. Данный факт мы уже неоднократно обсуждали в предыдущих главах. Однако, наряду с этим, эритроциты, встраиваясь в структуру тромба, делают его более плотным.

При сравнении продолжительности фаз свертывания в различных фракциях крови были так же получены весьма интересные результаты. Так, первая фаза свертывания протекала наиболее быстро в бестромбоцитарной плазме (ее продолжительность была равна $0,416\pm0,021$ мин). Следовательно, наибольшая активность синтеза тромбопластина имела место в бестромбоцитарной плазме. В цельной крови первая фаза свертывания была самой продолжительной из всех исследованных фракций (ее длительность составила $2,125\pm0,111$ мин). Таким образом, образование тромбопластина происходило значительно медленнее в цельной крови по сравнению с тромбоцитарной и бестромбоцитарной плазмой. Вторая фаза свертывания была самой короткой в бестромбоцитарной плазме (ее продолжительность составила $1,0\pm0,040$ мин). Это указывало на

наибольшую скорость полимеризации фибрина в данной фракции по сравнению с тромбоцитарной плазмой и цельной кровью. Наиболее длительно ($2,25\pm0,121$ мин) вторая фаза свертывания протекала в цельной крови, что свидетельствовало об относительном замедлении образования фибрина по сравнению с тромбоцитарной и бестромбоцитарной плазмой. Величина максимальной амплитуды электрокоагулограммы была самой низкой в цельной крови (показатель составил $5,0\pm0,224$ см). Это свидетельствовало об относительно большей вязкости цельной крови по сравнению с тромбоцитарной и бестромбоцитарной плазмой. Самая высокая максимальная амплитуда электрокоагулограммы ($7,0\pm0,34$ см) отмечалась в тромбоцитарной плазме. Таким образом, тромбоцитарная плазма изначально имела наименьшую вязкость по сравнению с прочими исследованными фракциями крови. Минимальная амплитуда электрокоагулограммы равнялась $0,5\pm0,01$ см в цельной крови и была нулевой в тромбоцитарной и бестромбоцитарной плазме. Это указывало на формирование более плотного сгустка в тромбоцитарной и бестромбоцитарной плазме по сравнению с цельной кровью. Соотношение максимальной амплитуды электрокоагулограммы к продолжительности первой фазы свертывания было самым высоким в бестромбоцитарной плазме ($13,702\pm0,741$ см/с), а самым низким в цельной крови $2,353\pm0,111$ см/с). Таким образом, динамика первой фазы свертывания была наиболее высокой в бестромбоцитарной плазме и низкой в цельной крови. На усиление динамических процессов полимеризации фибрина в бестромбоцитарной плазме указывало повышение отношения максимальной амплитуды электрокоагулограммы к продолжительности второй фазы свертывания в 2,57 раза по сравнению с цельной кровью и на 37% в тромбоцитарной плазме. Исходя из вышеизложенного, можно сделать вывод, что синтез тромбопластина и полимеризация фибрина происходили наиболее быстро и активно в бестромбоцитарной плазме по сравнению с другими фракциями крови были относительно замедлены в

цельной крови. Наибольшую вязкость у здоровых людей имела цельная кровь, а самый плотный сгусток образовывался в тромбоцитарной и бестромбоцитарной плазме.

В тоже время, изучение электроагулограмм, записанных с тромбоцитарной и бестромбоцитарной плазмой, выявило следующие закономерности. Так, при фазовом анализе электроагулограмм нами были получены следующие результаты. Первая фаза свертывания в бестромбоцитарной плазме была в 2,5 раза укорочена по сравнению с тромбоцитарной плазмой, что указывало на ускорение образования тромбопластина в бестромбоцитарной плазме. Продолжительность второй фазы была на 67% меньше в бестромбоцитарной плазме по сравнению с тромбоцитарной плазмой. Этот факт подтверждал повышение скорости и интенсивности полимеризации фибрин-мономерных молекул. Константа использования протромбина тромбопластином в тромбоцитарной плазме оказалась на 65% выше по сравнению с бестромбоцитарной. Это свидетельствовало об относительно большей интенсивности образования тромбина в тромбоцитарной плазме. Максимальная амплитуда электроагулограммы составила в тромбоцитарной плазме $7,0 \pm 0,34$ см по сравнению с $5,7 \pm 0,231$ см в тромбоцитарной. Что указывало на изначально большую вязкость бестромбоцитарной плазмы. В обеих исследованных фракциях у здоровых людей минимальная амплитуда электроагулограммы равнялась 0. Следовательно, плазменный сгусток как в тромбоцитарной, так и в бестромбоцитарной плазме был крайне плотным. Скорость свертывания у здоровых людей оказалась выше в бестромбоцитарной плазме. За первую минуту она была повышена в 3,7 раза, за вторую минуту на 30% по сравнению с величиной этого показателя в тромбоцитарной плазме. На факт формирования в тромбоцитарной плазме более плотных кровяных сгустков указывало увеличение показателя эластичности сгустка на 25% по сравнению с бестромбоцитарной плазмой. В бестромбоцитарной плазме практически здоровых людей отмечалось повышение константы L

на 41% по сравнению с тромбоцитарной плазмой. Это свидетельствовало об относительном повышении в бестромбоцитарной плазме как динамических, так и хронометрических процессов полимеризации фибрин и их контрактильных свойств. Коагуляционная активность бестромбоцитарной плазмы была в 2 раза выше, чем в тромбоцитарной плазме. Величины угловых констант ($\angle\alpha$ и $\angle\beta$) электроагулограмм здоровых людей с тромбоцитарной и бестромбоцитарной плазмой не имели существенных различий. Таким образом, процесс свертывания в бестромбоцитарной плазме у здоровых людей протекал значительно быстрее, чем в тромбоцитарной. Однако в тромбоцитарной плазме наблюдалось относительное ускорение синтеза тромбина, и образующийся в ней сгусток имел более плотный характер по сравнению с бестромбоцитарной плазмой. При изучении длительности фаз свертывания в различных фракциях крови были получены следующие результаты. У здоровых людей первая фаза свертывания была самой короткой в бестромбоцитарной плазме. Продолжительность ее была равна $0,416 \pm 0,021$ минут. Наибольшая длительность ($2,125 \pm 0,111$ минут) первой фазы свертывания отмечалась в цельной крови. Таким образом, наибольшая активность образования тромбопластина у здоровых людей имела место в бестромбоцитарной плазме и наименьшая – в цельной крови. Вторая фаза свертывания была самой короткой также в бестромбоцитарной плазме (ее продолжительность составила $1,0 \pm 0,040$ мин). Это указывало на наибольшую скорость полимеризации фибрин в данной фракции по сравнению с тромбоцитарной плазмой и цельной кровью. Наиболее длительно ($2,25 \pm 0,121$ мин) вторая фаза свертывания протекала в цельной крови, что свидетельствовало об относительном замедлении образования фибрин по сравнению с тромбоцитарной и бестромбоцитарной плазмой. Константа использования протромбина тромбопластином, равная отношению продолжительности первой и второй фаз свертывания в цельной крови и тромбоцитарной плазме практически не различалась. Этот по-

казатель составил $0,987 \pm 0,012$ у. е. и $0,827 \pm 0,046$ соответственно. Существенно ниже константа использования протромбина тромбопластином оказалась в бестромбоцитарной плазме ($0,5 \pm 0,231$ у. е.). Следовательно, скорость и интенсивность синтеза тромбина в бестромбоцитарной плазме у здоровых людей была снижена по сравнению с тромбоцитарной плазмой и цельной кровью. Фибринолиз в тромбоцитарной и бестромбоцитарной плазме отсутствовал у всех обследованных лиц. В цельной крови время начала фибринолиза равнялось $6,25 \pm 0,525$ минут, а продолжительность – $2,25 \pm 0,172$ минуты. Исходя из вышеизложенного, можно сделать вывод, что у практически здоровых людей синтез тромбопластина и полимеризация фибринова происходили наиболее быстро в бестромбоцитарной плазме и наиболее медленно в цельной крови. Наблюдалось также относительное замедление синтеза тромбина в бестромбоцитарной плазме по сравнению с другими исследованными фракциями. Кроме того, у обследованных лиц было выявлено отсутствие фибринолиза в тромбоцитарной и бестромбоцитарной плазме.

Таким образом, использование вышеперечисленных методов и приемов оценки электрокоагулограмм позволяет, по нашему мнению, с гораздо большей степенью достоверности оценивать разнообразные как физиологические, так и патофизиологические особенности гемостаза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абакумова О.Ю., Куценко Н.Г., Панасюк А.Ф. Регуляция синтеза ДНК фибронектином и продуктами его протеолиза в фибробластах кожи здоровых доброволов и больных системной склеродермии и ревматоидным артритом // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1989. № 12. С. 678–681.
2. Абоскулиева Д.М., Ханумова Т.А., Велиханова Д.М. Влияние активизации адренореактивных структур норадреналином на гемодинамические эффекты простагландина F – 2 альфа // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1987. № 9. С. 268–270.
3. Айзенберг А.А., Грицюк А.И. Проблема внутрисосудистого тромбообразования в клинике внутренних болезней и перспективы ее дальнейшего изучения // Тромбоэмболическая болезнь, свертываемость крови и кровотечения. – Киев, 1967. С. 3–5.
4. Акалаев Р.Н., Абидов А.А., Левицкий Э.Р. Активность эндогенных фосфолипаз эритроцитов и уровень перикисного окисления липидов у больных с хронической почечной недостаточностью // Терапевтический архив. 1992. № 11. С. 57–58.
5. Алиев М.А., Арестова С.И., Душейналиева Ш. Горноадаптационная гипергепаринемия и ее саногенетическое влияние на артериальное давление при гипертонии у собак // Гепарин. Физиология, биохимия, фармакология, клиническое применение. – М., 1973. С. 13–15.
6. Алиев М.А., Захаров Г.А., Душейналиева Ш. Влияние экзогенных гормонов на содержание эндогенно-

- го гепарина // Гепарин. Физиология, биохимия, фармакология, клиническое применение. – М., 1973. С. 11–13.
7. Ананченко В.Г., Долбилова В.А. Лечение гепарином больных с коронарным атеросклерозом в поликлинических условиях // Лечение антикоагулянтами и фибринолитическими средствами. – Каунас, 1965. С. 14–15.
 8. Андреенко Г.В. Фибринолиз (биохимия, физиология, патология). – М.: Издательство Московского университета, 1979. 352 с.
 9. Андреенко Г.В., Шелковина О.В., Подорольская Л.В. Изменение системы гемостаза и фибринолиза у крыс при экспериментальной почечной гипертензии // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1989. № 10. С. 502–504.
 10. Ашкнази И.Я., Ярошевский А.Я. О роли эритроцитов в регуляции свертывания крови // 10-й съезд Всесоюзного физиологического общества имени Павлова И.П. – М., 1964. С. 141–142.
 11. Ашкнази И.Я. Эритроцит и свертывание крови // Вопросы нервно-гуморальной регуляции процесса свертывания крови в условиях нормы и патологии. – Чита, 1971. С. 10–17.
 12. Бабаев В.Р., Крушинский А.В., Домогатский С.П., Ефремов Е.Е., Репин В.С. Выявление фибронектина и коллагена 1, 3, 4, 5 типов на полутонких срезах аорты человека // Архив патологии. 1988. № 1. С. 77–79.
 13. Бадальян Г.О., Епископян Н.Г. Функциональное состояние эритроцитов у больных инфарктом миокарда // Терапевтический архив. 1983. № 11. С. 31–33.
 14. Балуда В.П. Взаимоотношение между свертывающей и фибринолитической системами крови в физиологии и патологии // Тезисы докладов научной сессии по фибринолизу. – Л., 1965. С. 5–6.
 15. Балуда В.П., Жукова Н.А. Фактор XIII, его физиологическое значение // Проблемы гематологии и переливания крови. 1973. № 2. С. 34–40.
 16. Балуда В.П., Баркаган З.С., Гольдберг Е.Д., Кузник Б.И., Лакин К.– М. Лабораторные методы исследований системы гемостаза. – Томск: Красное знамя. 1980. 314 с.
 17. Балуда В.П., Сушкевич Г.Н., Лукоянова Т.И. Роль простагландинов, тромбоксанов и простациклина в регуляции процесса агрегации и реакции освобождения тромбоцитов в норме и патологии // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 1980. № 4. С. 80–85.
 18. Балуда В.П., Лукоянова Т.И. Простациклин генерирующая система стенки сосудов и тромбогенез // 1 Всесоюзная конференция «Поражение сосудистой стенки и гемостаз». Полтава, 1981. С. 20.
 19. Балаянина Е.В., Атаханов Ш.Э., Габбасов З.А., Попов Е.Г., Юрьев А.П. Индуцированная АДФ-агрегация тромбоцитов у больных гипертонической болезнью с различной степенью гипертрофии миокарда левого желудочка // Терапевтический архив. 1991. № 12. С. 50–53.
 20. Балаянина Е.В., Атаханов Ш.Э., Габбасов З.А., Попов Е.Г., Юрьев А.П. Влияние длительной терапии антагонистом кальция на функциональную активность тромбоцитов у больных гипертонической болезнью // Терапевтический архив. 1992. № 8. С. 39–43.

21. Баркаган З.С., Баркаган Л.З. Определение гепарина в крови // Система гемостаза в норме и патологии.– Минск, 1973. С. 227–229.
22. Баркаган З.С. Геморрагические заболевания и синдромы. – М.: Медицина, 1980. 336 с.
23. Баркаган З.С. Гематогенные тромбофилии // Терапевтический архив. 1983. С. 88–95.
24. Батиста-Диас А. Активатор плазминогена плазмы (АПП) человека // Проблемы гематологии и переливания крови. 1982. № 1. С. 40–44.
25. Башков Г.В. Нарушение взаимодействия тромбина с сосудистой стенкой и его инактивация антитромбином-III при экспериментальном нефротическом синдроме // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1990. № 8. С. 133–136.
26. Белоусов Ю.Б. Тромболитическая терапия // Кардиология. 1986. № 9. С. 116–118.
27. Белоусов Ю.Б., Кудаев М.Т., Работникова Т.В. Чувствительность и специфичность показателей гемостаза в диагностике тромбоэмболии легочной артерии у больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями // Кардиология. 1986. № 9. С. 63–66.
28. Биленко М.В., Тельпухов В.И., Чуракова Т.Д., Комаров П.Г. Влияние ишемии и реперфузии головного мозга крыс на процессы перикисного окисления липидов и защитный эффект антиоксидантов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1988. № 4. С. 394–397.
29. Биленко М.В., Булгаков В.Г., Моргунов А.А. Отрицательный инотропный и вазоконстрикторный эффекты окисления фосфолипидов // Кардиология. 1989. № 6. С. 88–94.
30. Бишевский К.М. Метод определения антитромбин-III // Лабораторные методы исследования системы гемостаза. – Томск, 1980. С. 199–202.
31. Борисова Т.А., Горшкова Т.Н., Эдокова Г.И. Влияние фибринопептидов А и В на антикоагулянтные свойства крови // Гепарин. Физиология, биохимия, фармакология, клиническое применение. – М., 1973. С. 44–45.
32. Бояджиян Х.П. Клиническое значение определения фибриногена при заболеваниях печени // Клиническая медицина. 1985. № 8. С. 101–104.
33. Бровкович В.М., Беневольский Д.С., Левицкий Д.О. Нарушение функции саркоплазматического ретикулума при тотальной ишемии миокарда, защитное действие кверцетина // Кардиология. 1987. № 10. С. 102–105.
34. Бровкович В.М., Никитченко Ю.В., Лемешко В.В. Нарушение Ca^{++} – транспортирующей функции и липидного компонента мембран саркоплазматического ретикулума при тотальной ишемии миокарда крыс // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1987. № 11. С. 546–548.
35. Бровкович Э.Д., Воробьев В.Б., Воробьева Э.В., Воробьева Ю.В. Функционирование противосвертывающей системы крови у больных с нарушениями мозгового кровообращения // Механизмы некоторых патологических процессов в эксперименте и клинике. – Ростов н/Д, 1999. С. 132.
36. Брыгинский С.А., Зубаренко А.В., Лишко В.К., Миняйленко Т.Д., Пожаров В.П., Розова Е.В., Середенко М.М., Стефанов А.В. Применение липосом для коррекции респираторной гипоксии при эксперимен-

- тальной пневмонии // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1988. № 10. С. 421–423.
37. Бурый В.А., Гурковская А.В., Гокина Н.И., Шуба М.Ф. Роль внутри- и внеклеточного Са в активации сокращения гладких мышц легочной артерии, вызываемого серотонином // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1988. № 9. С. 261–264.
38. Бурый В.А., Гурковская А.В., Гокина Н.И., Шуба М.Ф. Влияние уровня мембранныго потенциала на вызываемые серотонином сокращения гладких мышц легочной артерии кролика // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1992. № 1. С. 13–16.
39. Бышевский А.Ш. О непрерывном осуществлении процесса свертывания крови. // Гематология и трансфузиология. 1984. № 7. С. 36–40.
40. Вартанян Г.С., Паносян А.Г., Карагезян К.Г., Геворкян Г.А. Влияние тригидроксиоктадекадиеновых кислот на содержание простагландинов Е-2, F-2-альфа-5-гидроксизийозатетраеновой кислоты в крови крыс при алоксановом диабете // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1986. № 4. С. 418–419.
41. Васильев С.А., Джумбаева В.Т., Колесникова А.С., Ермолин Г.А., Ефремов Е.Е., Котелянский В.Э., Рогова Э.М. Плазменный гепариновый преципитат как источник фибронектина для лечения больных с трофическими поражениями кожи // Терапевтический архив. 1987. № 5. С. 127–130.
42. Васильев С.А., Арчадзе В.Г., Алексеев Г.И., Баранович В.Ю., Ефремов Е.Е., Ермолин Г.А., Жердева Л.В., Гусева Н.Г., Бранаускайте А.А. Селективный лимфоферез (метод избирательной алиминации из лимфы клеточных элементов и фибронектиновых комплексов) при системной склеродермии // Терапевтический архив. 1992. № 7. С. 93–96.
43. Васильева Е.В., Мазнева Л.М., Голованова О.Е., Сура В.В. Фибронектин в норме и патологии // Терапевтический архив. 1991. № 12. С. 130–134.
44. Вашкинель В.К., Петров М.Н. Ультраструктура и функция тромбоцитов человека. – М.: Медицина, 1982. 88 с.
45. Вершин В.Н., Лапотников В.А., Хараш Л.М., Барышникова О.В., Беркович О.А., Моисеев С.И., Цыбина Т.Г. Гемореологические нарушения при нестабильной стенокардии // Советская медицина. 1982. № 10. С. 3–5.
46. Веселкин П.Н., Ильин В.С., Чаплыгина З.А. О роли легких в обмене фибриногена // Вопросы медицинской химии. 1955. № 2. С. 121–127.
47. Викторов А.В., Данк Е.Х., Кузнецов В.А., Тер-Симонян В.Г., Юрков В.А. Способность липосахаридного токсина усиливать функциональный ответ тромбоцитов человека на стимуляцию тромбином // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1988. № 2. С. 158–160.
48. Вихерт А.М. Взгляды А.Л.Мясникова на атеросклероз и их влияние на некоторые последующие исследования // Кардиология. 1989. № 11. С. 15–20.
49. Воробьев В.Б. Роль нарушений гемостаза в патогенезе повреждений внутренних органов и тканей конечностей // Докторская диссертация. Ростов н/Д. 1994. 752 с.
50. Воробьев В.Б. Гемостазиологические аспекты патогенеза гипертонической болезни // Актуальные вопросы кардиологии. – Ростов н/Д, 1996. С. 44–50.

51. Воробьев В.Б.Воробьева Э.В., Волошин В.В. Роль тромбоксанов и гидроперикисей липидов в патогенезе гипертонической болезни // Актуальные вопросы кардиологии. – Ростов н/Д, 1996. С. 61–66.
52. Воробьева Э.В., Воробьев В.Б. Состояние противо-свертывающей системы крови у больных с нарушениями мозгового кровообращения (НМК) // Актуальные вопросы кардиологии. – Ростов н/Д, 1996. С. 74–79.
53. Воробьева Э.В., Воробьев В.Б. Изменение содержания фибриногена, его дериватов, комплексов и продуктов деградации у больных с нарушениями мозгового кровообращения (НМК) // Актуальные вопросы кардиологии. – Ростов н/Д, 1996. С. 79–82.
54. Воробьева Э.В., Воробьев В.Б., Леонова Т.Н. Роль тромбоксанов и изменения функционального состояния тромбоцитов в патогенезе нарушений кровообращения головного мозга у больных, страдающих гипертонической болезнью // Актуальные вопросы кардиологии. – Ростов н/Д, 1996. С. 82–86.
55. Габриелян Э.С., Акопов С.Э., Мелик-Исраелян Ш.С., Ерзинкян С.М., Толстиков А.Г., Толстиков Г.А. Влияние лейкотриена Е-4 на центральную гемодинамику и сократительную активность сосудов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1986. № 4. С. 438–440.
56. Габриелян Э.С., Акопов С.Э., Паносян А.Г., Хашимов Х.А., Тертов В.В., Орехов А.Н. Влияние эйкозаноидов на накопление холестерина и пролиферацию субэндотелиальных клеток аорты человека // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1988. № 1. С. 35–37.
57. Габриелян Э.С., Григорян С.В., Давтян Д.Г., Мхитарян Г.С., Паносян А.Г. Уровень лейкотриенов В-4 и С-4 в плазме крови больных периодической болезнью // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1990. № 9. С. 296–297.
58. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрометрическое определение содержания гидроперикисей липидов в плазме крови // Лабораторное дело. 1983. № 3. С. 33–36.
59. Гефтер А.И., Пономарева А.Г., Жданов Ю.Е. Фибринолитическая терапия при сердечно-сосудистых заболеваниях // Лечение антикоагулянтами и фибринолитическими средствами. – Каунас, 1965. С. 22–23.
60. Голиков А.П., Полумисков В.Ю., Давыдов Б.В., Каравев В.А. Башкатова В.Г., Белозеров Г.Е., Голиков П.П., Берестов А.А. Перикисное окисление липидов и основные факторы его активизации у больных инфарктом миокарда // Кардиология. 1989. № 7. С. 53–59.
61. Голубева Л.Ю., Белкина Л.М., Салтыкова В.А., Меерзон Ф.З. Влияние антиоксиданта ионола на показатели энергетического метаболизма и функцию сердца при острой гипоксии и последующей реоксигенации // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1989. № 6. С. 685–688.
62. Грицюк А.И. Фибринолитическая система крови человека и методы ее лабораторного исследования. – Киев: Здоров'я, 1969. 160 с.
63. Громнацкий Н.И. О роли тромбоцитов в патогенезе атеросклероза // Кардиология. 1974. № 11. С.62–66.
64. Гурковская А.В., Бурый В.А., Гокина Н.И., Шуба М.Ф. Исследование мембранных механизмов воз-

- буждающего действия серотонина на гладкие мышцы легочной артерии кролика // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1988. № 2. С. 131–133.
65. Данилов Г.Е., Ибатов А.Д. Экспериментальная модель атеросклероза, вызванная введением ацетилхолина в ретикулярную формуацию среднего мозга // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1991. № 4. С. 361–363.
66. Дормидонтов Е.Н., Коршунов Н.И., Фризен Б.Н. Ревматоидный артрит. – М.: Медицина, 1981. 176 с.
67. Дубяга А.Н., Зиганьшин Р.В., Цушко В.С. Диагностика и лечение тромбогеморрагического синдрома // Хирургия. 1985. № 12. С. 67–71.
68. Дудаев В.А., Горин В.В., Шингирей М.В., Ключникова Ж.И., Дюков И.В. Влияние пробукола на липидный обмен и клиническое течение ишемической болезни сердца и облитерирующего атеросклероза сосудов нижних конечностей // Кардиология. 1984. № 6. С. 76–79.
69. Дудаев В.А., Дюков И.В., Бородкин В.В. Влияние физических тренировок на клиническое течение и состояние коагуляционного гемостаза у больных ишемической болезнью сердца // Кардиология. 1988. № 11. С. 22–26.
70. Дюбанова Г.А., Сидорова Л.Д., Баркаган Л.З., Мовчан Е.А., Валеник М.Ф. Механизмы внутрисосудистого свертывания крови у больных системной склеродермией // Терапевтический архив. 1990. № 5. С. 63–65.
71. Ермолин Г.А., Литвинов Р.И., Харин Г.М., Ефремов Е.Е., Котелянский В.Э. Уровень фибронектина в кро-ви при экспериментальном ожоговом шоке // Терапевтический архив. 1984. № 6. С. 33–35.
72. Ермолин Г.А., Люсов В.А., Панченко Е.П. Количественный иммуноферментный метод определения продуктов распада фибриногена-фибрина в крови // Лабораторное дело. 1984. № 1. С. 11–15.
73. Ена Я.М., Дранкин Г.Н., Коноплева Л.Ф. Продукты распада фибрина/фибриногена в диагностике тромбоэмболии легочной артерии // Терапевтический архив. 1985. № 4. С. 143–146.
74. Ефетова Т.М. Применение гепарина при остром расстройстве ретинального кровообращения // Гепарин. Физиология, биохимия, фармакология, клиническое применение. – М., 1973, С. 112–114.
75. Ефимов В.В., Ладный А.И. Патогенетическое значение простациклина при атеросклерозе // Терапевтический архив. 1985. № 9. С. 142–148.
76. Жадкевич М.М., Карапкин А.В., Матвеев Д.В., Сантова Г.Д. Влияние криопреципитата на фагоцитарную активность клеток печени при перитоните // Советская медицина. 1988. № 12. С. 3–6.
77. Захаров В.В., Магомедов Л.А., Мещерякова С.А., Шехтер А.Б., Капитонов Н.И., Гончаренко Е.Н., Гудзь Т.И., Рагимов Ч.Р., Агаев А.Ю. Взаимосвязь серотонина и продуктов липопероксидации в процессе заживления ран в эксперименте // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1989. № 6. С. 690–693.
78. Зеймаль Э.В., Шелковников С.А. Мускариновые рецепторы. – Л.: Наука, 1989. 287 с.
79. Зинкевич О.Д., Литвинов Р.И., Зубаиров Д.М., Кураская М.С. Взаимодействие фибронектина с по-

- лиморфнонуклеарными лейкоцитами в норме и при анафилаксии // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1986. № 10. С. 449–452.
80. Зубаиров Д.М., Андрушко И.А. Биохимические механизмы влияния сосудистой стенки на гемостаз // 1 Всесоюзная конференция «Поражение сосудистой стенки и гемостаз». – Полтава, 1981. С. 74–75.
81. Зубаиров Д.М., Субханкулова Ф.Б., Эвранова Г.Б. Участие альвеолярных макрофагов в катаболизме фибриногена и фибрина // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1989. № 3. С. 335–337.
82. Иашвили В.П. Внутрисосудистое свертывание крови и нарушение микроциркуляции при ожоговой болезни // Хирургия. 1984. № 11. С. 75–77.
83. Иванов Е.П. Диагностика нарушений гемостаза. – Минск: Беларусь, 1983. 222 с.
84. Какабанда А., Кацадзе Ю.Л., Котовщикова. М.А. Сравнительная оценка трех различных методов исследования антитромбина-3 // Лабораторное дело. 1984. № 5. С. 276–279.
85. Калишевская Т.М., Голубева М.Г., Айсина Р.Б., Попова Г.Ю., Башков Г.В. Роль активного центра фермента в триггерном механизме компенсаторной реакции на плазмин // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1989. № 3. С. 260–264.
86. Карпович П.Н. Тромбоэластография в хирургической практике: Автореферат кандидата медицинских наук. – Рига, 1966. 20 с.
87. Каррыева Б.Ч., Сокуренко Е.В., Самойлов Е.В., Козловская Л.В. Значение определения уровня фибронектина в плазме крови и моче у больных хрониче-
- ским гломерулонефритом и амилоидозом // Терапевтический архив. 1992. № 4. С. 75–78.
88. Кибарскис Х., Сабитова Л. Изменение скорости пульсовой волны и артериального давления под влиянием гепарина у больных хронической коронарной недостаточностью // Лечение антикоагулянтами и фибринолитическими средствами. – Каунас, 1965. С. 43–44.
89. Кипшидзе Н.Н., Хомерики С.Г., Кубатиев А.А., Шляпников В.Н. Изменение лектининдуцированной хемилюминесценции нейтрофильных гранулоцитов после облучения крови светом гелий-неонового лазера // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1992. № 1. С. 24–26.
90. Климов А.Н., Кожемякин Л.А., Плесков В.М., Андреева Л.И. Антиоксидантный эффект липопротеидов высокой плотности при перикисном окислении липопротеидов низкой плотности // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1987. № 5. С. 550–552.
91. Коган А.Е., Струкова С.М. Влияние гепарина и тромбопластина на время полужизни 125-I-протеина С в кровотоке крыс // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1991. № 2. С. 116–118.
92. Коломиец В.И., Васильев Ю.М. Плазменные и клеточные факторы атерогенеза и синтеза простаноидов на ранних стадиях артериальной гипертонии // Кардиология. 1989. № 9. С. 21–25.
93. Колосова Н.Г., Шишкина Л.Н. Характеристика мембран и функциональной активности фагоцитирующих альвеолярных макрофагов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1989. № 1. С. 71–74.
94. Коровкин Б.Ф., Полякова Э.Д., Стволинская Н.С., Ге-

- расимова Ц.И., Иванова Т.Н., Голубев М.А. Активность кислой фосфотазы и состояние лизосомных мембран в первичной культуре кардиомиоцитов новорожденных крыс при гипоксии // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1988. № 4. С. 417–419.
95. Котелянский В.Э., Орехов А.Н., Тертов В.В., Хишиков Х.А., Глухова М.А., Фрид М.Г., Орнатская О.И., Василевская Т.Д., Смирнов В.И. Влияние компонентов экстрацеллюлярного матрикса на накопление липидов в клетках человека // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1987. № 11. С. 562–564.
96. Красноперов Ф.Т. Гепарин в малых дозах как фактор стимуляции адаптационных возможностей организма // Система свертывания крови и фибринолиз.– Саратов. 1975. С. 72–74.
97. Кубатиев А.А., Андреев С.В. Эндогенные простагландини в динамике индуцированной агрегации тромбоцитов // Актуальные проблемы гемостазиологии.– М., 1981. С. 150–153.
98. Кудряшов Б.А. Биологические проблемы регуляции жидкого состояния крови и ее свертывания. – М.: Медицина, 1975. 488 с.
99. Кузнецов А.С., Миссюль Б.В., Парфенов Н.С. Модификация липопротеидов плазмы крови продуктом перикисного окисления липидов – гексаналем // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1989. № 3. С. 294–296.
100. Кузник Б.И., Альфоксов В.В., Мищенко В.П., Русев В.Ф., Бочкинников В.В., Савушкин А.В., Малежник Л.П. К механизму развития гиперкоагуляции и вторичной гипокоагуляции // Вопросы нервно-гумо-
- ральной регуляции процесса свертывания крови в условиях нормы и патологии. – Чита, 1971. С. 73–83.
101. Кузник Б.И., Ельчанинова Т.И., Корнеева Л.А., Кучук В.М., Попова В.Е., Александрова Е.М., Наумов А.Д., Ивлиева Т., Тюхлова Г., Малинская Н., Иванов К., Наумов В. Сосудисто-тромбоцитарный гемостаз и система свертывания крови у человека и различных животных // Вопросы нервно-гуморальной регуляции процесса свертывания крови в условиях нормы и патологии. – Чита, 1971. С. 130–142.
102. Кузник Б.И., Скипетров В.П. Форменные элементы крови, сосудистая стенка, гемостаз и тромбоз. – М.: Медицина, 1977. 308 с.
103. Лакин К.М., Овнатанова М.С. Исследование действия на агрегацию эритроцитов средств, применяемых в терапии тромботических и геморрагических состояний // Кардиология. 1977. № 5. С. 79–83.
104. Ланкин В.З., Тихазе А.К., Ракита Д.Р., Афонская Н.И., Руда М.Я., Вихерт А.М. Утилизация активных форм кислорода и липопероксидов в крови больных инфарктом миокарда // Терапевтический архив. 1985. № 5. С. 58–62.
105. Ланкин В.З., Каценович Э.Р., Костко С.З., Тихазе А.К., Митина В.М. Изменение активности антиоксидантных ферментов в крови больных ишемической болезнью сердца при лечении нитросорбитом // Кардиология. 1987. № 10. С. 117–119.
106. Левина Л.Д., Мхитарян Л.М. Лечение острого вирусного гепатита В цитохромом С // Советская медицина. 1988. № 2. С. 92–94.
107. Левитан Б.Н., Панов А.А., Чичков Ю.Ф. Синдром внутрисосудистого свертывания при язвенной болез-

- ни желудка и 12-ти перстной кишки // Советская медицина. 1988. № 7. С. 6–9.
108. Лукьяненко Е.Ф., Киреева Е.Г., Струкова С.М. Влияние тромбомодулина на специфические функции тромбина: свертывание фибриногена и агрегацию тромбоцитов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1988. № 11. С. 517–519.
 109. Лынев С.Н., Туманян С.В., Авшалумов С.И. Состояние центральной гемодинамики и кислородно-транспортной функции крови у больных, оперированных по поводу нефрогенной гипертензии в условиях гемодилюции // Урология и нефрология. 1985. № 6. С.43–45.
 110. Лычев В.Г., Момот А.П., Черкашин Г.В. Сравнительное изучение различных экспресс-методов определения продуктов трансформации фибриногена в диагностике внутрисосудистого свертывания крови и фибринолиза // Терапевтический архив. 1984. № 6. С. 106–109.
 111. Любина Л.В., Тлепшуков И.К. Нарушение функции сосудисто-тромбоцитарного звена системы гемостаза в процессе опухолевого роста // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1989. № 12. С. 716–718.
 112. Люсов В.А. Гемостаз (тромбоциты, свертываемость, фибринолиз) при коронарном атеросклерозе // Система свертывания крови и фибринолиз. – Саратов, 1975. С.81–83.
 113. Люсов В.А., Белоусов Ю.Б., Парfenov А.С., Савенков М.П., Панченко Е.П. Механизм нарушения гемостаза и реологических свойств крови при ишемической болезни сердца и недостаточности кровообращения // Актуальные вопросы гемостазиологии.– М., 1981. С. 232–244.
 114. Люсов В.А., Соболева В.Н., Катышкина Н.И. Изменения в системе гемостаза у больных ишемической болезнью сердца при изоволемической гемодилюции // Кардиология. 1985. № 9. С. 63–67.
 115. Люсов В.А. Роль системы свертывания крови в развитии сердечно-сосудистых заболеваний // Превентивная кардиология. – М., 1987. С. 335–356.
 116. Люсов В.А., Белоусов Ю.Б., Бородкин В.В. Тромбозы и аритмии сердца // Кардиология. 1989. № 10. С. 10–15.
 117. Люсов В.А., Дудаев В.А., Бородкин В.В., Рудаков А.В. Изменения тромбоцитарно-сосудистого гемостаза и содержания циклических нуклеотидов под влиянием антиаритмической терапии больных ишемической болезнью сердца // Кардиология. 1989. № 1. С. 9–13.
 118. Магомедов Н.М., Азимова А.М., Джрафов А.И. Na,K – АТФ-азная активность отдельных структурных компонентов зрительной системы морских свинок при гипоксии // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1990. № 3. С. 248–250.
 119. Мазурик Ф.М., Рудый М.А., Сакевич П.П., Пономаренко А.И., Мазурик С.М. Лечение больных облитерирующим атеросклерозом сосудов нижних конечностей с множественными окклюзиями // Хирургия. 1983. № 5. С. 38–41.
 120. Мазырко А.В. Антитромбин III и показатели гепаринорезистентности у больных мочекаменной болезнью // Терапевтический архив. 1983. № 8. С.102–105.
 121. Макацария А.Д., Нестерова С.Г. Значение определения антитромбина III при некоторых осложнениях беременности и послеродового периода // Акушерство и гинекология. 1982. № 5. С. 27–29.

122. Мандровская Н.В., Марков Х.М., Смирнов И.Е., Брязгунов И.П. Возрастные изменения биосинтеза простатиклина и тромбоксана В-2 в норме и при артериальной гипертензии // Кардиология. 1983. № 12. С. 62–65.
123. Манухин И.Б., Каширская Т.Н. Состояние тромбоцитарного звена гемостаза у беременных с клапанными протезами сердца и коррекция его нарушений // Акушерство и гинекология. 1984. № 7. С. 24–26.
124. Манухина И.Б. Удаление эндотелия устраниет стрескорное снижение адренореактивности аорты // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1990. № 8. С. 136–138.
125. Междумян А.Г., Вихерт О.А., Габбасов З.А., Майсов Н.И., Гаврилов И.Ю., Кротов С.Н., Арабидзе Г.Г., Попов Е.Г. Функциональное состояние кровяных пластинок при артериальной гипертонии и изменения серотонинсодержащих гранул клеток // Кардиология. 1989. № 9. С. 13–18.
126. Мерзон К.А. Кальций-регулирующие гормоны и сердечно-сосудистая система: патофизиологические и клинические аспекты их взаимоотношений // Кардиология. 1987. № 11. С. 122–128.
127. Метелица Т.В. Серотонин, его физиологическая и патофизиологическая роль. Котансерин // Кардиология. 1989. № 9. С. 120–125.
128. Митрошина А.В., Горбунова З.В. Лечебно-профилактическое применение антикоагулянтов у больных ревматическими пороками сердца и его эффективность // Система свертывания крови и фибринолиз.– Саратов, 1975. С. 187–189.
129. Мищенко В.Н. Перикисное окисление липидов, антиоксиданты и свертываемость крови // Актуальные проблемы гемостазиологии. – М., 1981. С. 153–157.
130. Мойбенко А.А., Колчин Ю.Н., Булах В.Н., Сорочинский А.Е. Влияние лейкотриена ЛТС-4 на коронарное сосудистое русло и сократительную функцию миокарда // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1991. № 2. С. 120–123.
131. Мухин Н.А., Тареева И.Е. Диагностика и лечение болезней почек. – М.: Медицина, 1985. 240 с.
132. Неверов Н.И., Козловская Л.В., Каррыева Б.Ч., Колондук Н.В., Козлова Р.И., Тареева И.Е. Свободно-радикальные процессы и перикисное окисление липидов при заболеваниях почек // Терапевтический архив. 1992. № 11. С. 42–44.
133. Никифоров В.Н., Никифоров В.В. Гемостаз при токсико-инфекционном шоке. // Актуальные проблемы гемостазиологии. – М., 1981. С. 256–262.
134. Николаева Л.Ф., Алешин О.И., Павлов Н.А., Померанцев Е.В., Масенко В.П., Баранов А.В., Куприяnenko Т.И. Состояние системы простатиклин–тромбоксан А-2 у больных ишемической болезнью сердца во время индуцированной ишемии миокарда // Советская медицина. – 1988. № 4. С.3–6.
135. Николаева М.Я., Пархимович Р.– М. Инсулин как регулятор гомеостаза ионов водорода // Советская медицина. 1988. № 4. С. 17–19.
136. Одинокова В.А., Палеев Н.Р., Смирнов В.Б., Мравян С.Р. Ультраструктура предсердных миокардицитов при инфекционно-аллергическом миокардите// Советская медицина. 1988. № 2. С. 35–38.
137. Панасенко О.М., Вольнова Т.В., Азизова С.А., Вла-

- димиров Ю.А. Перикисное окисление липидов – фактор, способствующий накоплению холестерина в клетках при атерогенезе // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1988. № 9. С. 277–280.
138. Панченко А.Л. Изменения сосудистой реактивности кнейромедиаторам под действием протеолитических ферментов крови // Поражение сосудистой стенки и гемостаз. – М., 1983. С. 579–581.
139. Пасторова В.Е., Панченко В.М. Антиплазмин и его влияние на функцию противосвертывающей системы в норме и патологии // Тромбоэмбическая болезнь, свертываемость крови и кровотечения. – Киев, 1967. С. 98–100.
140. Петрова Т.Р., Вильчинская М.Н. Гемостаз и микроциркуляция при диабетической ангиопатии // Советская медицина. 1984. № 4. С. 98–101.
141. Погромов А.П., Коган А.Х., Лашкевич А.В., Гладышева Е.Г. О генерации активных форм кислорода лейкоцитами и их роли в развитии хронических гастро-дуodenальных заболеваний // Терапевтический архив. 1992. № 7. С. 97–100.
142. Пруссих Г.А., Щахов Ю.А., Чудакова И.А., Грацианский Н.А., Оганов Р.Г. Увеличение числа альфа-2-адренорецепторов в тромбоцитах лиц с гипо-альфа-холестеринемией // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1989. № 10. С. 423–426.
143. Пуговкин А.П., Артемьева А.И., Лазарев С.Г. Резистивная и емкостная функция сосудов головного мозга в условиях активизации его холинергических механизмов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1992. № 1. С. 3–5.
144. Рзаев Н.М. Эмболии и тромбозы легочной артерии. Баку: Азернешр, 1970. 224 с.
145. Розен В.Б. Основы эндокринологии. – М.: Высшая школа, 1980. 344 с.
146. Розенфельд И.А., Клейменов А.Н., Мешков Б.Б., Гershкович К.Б., Шимкевич Л.Л. Новые данные об антикоагулянтной активности гепарина // Поражение сосудистой стенки и гемостаз. – Полтава, 1981. С. 173.
147. Рудык Б.И., Сабадашин Р.А. Влияние эмоксилина на состояние перекисного окисления липидов у больных с хронической недостаточностью // Кардиология. 1991. № 11. С. 52–54.
148. Рудык Б.И., Сабадашин Р.А., Блинова Н.Г. Состояние перекисного окисления липидов у больных хронической сердечной недостаточностью // Терапевтический архив. 1991. № 12. С. 66–69.
149. Савельев В.С., Шестаков В.А., Ильин В.Н. Тромботическое и пост thrombotическое состояние гемостаза как общебиологическая закономерность тромбообразования // Актуальные проблемы гемостазиологии. – М., 1981. С. 103–109.
150. Савушкин А.В. Влияние гепарина на дзета-потенциал эритроцитов “ин витро” в филогенезе // Гепарин. Физиология, биохимия, фармакология, клиническое применение. – М., 1973. С. 272–273.
151. Самагулова З.Ш., Даниленко М.П., Есырев О.В., Зумеров Е.Л. Характеристика АТФ-азной активности сарколеммы продольной и циркуляторной мускулатуры подвздошной кишки собаки // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1990. № 10. С. 341–344.

152. Самойлов А.П., Пятова Ж.А. Гистологические и гистохимические изменения в сердце при экспериментальном моделировании эндомиокардита в условиях введения гепарина // Гепарин. Физиология, биохимия, фармакология, клиническое применение. – М., 1973. С. 273–275.
153. Сербнова Е.А., Кибийска М.Б., Тюрин В.А., Коган В.Е., Стойчев Ц.С. Защитное действие липо- и водорастворимых антиоксидантов на систему цито-хрома Р-450 при перикисном окислении липидов в микросомах печени // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1989. № 2. С. 187–190.
154. Сигал В.Л. Электрокинетический заряд эритроцитов и его роль в обеспечении структурных свойств крови // Гематология и трансфузиология. 1988. № 4. С. 40–44.
155. Сильвестров В.П., Никитин А.В., Чеснокова И.В. Об иммунологических и метаболических нарушениях и путях их коррекции у больных // Терапевтический архив. 1991. № 12. С. 7–11.
156. Скакун Н.П. Роль перикисного окисления липидов в патогенезе заболеваний печени // Врачебное дело. 1987. № 10. С. 86–91.
157. Следзевская И.К., Братусь В.В., Бабов К.Д., Бульда В.И., Стрелко В.В., Воронков Г.С., Евстратова И.Н., Сергиенко О.В., Тараненко В.М. Применение энтеросорбента СКН при гиперлипопротеидемиях (клинико-экспериментальное исследование) // Терапевтический архив. 1992. № 8. С. 15–17.
158. Смирнов В.Н., Репин В.С. Атеросклероз: клеточные проявления и механизмы развития заболевания в артериях человека // Бюллетень ВКНЦ АМН СССР. – 1985. № 2. С. 13–31.
159. Сократов Н.В. Роль почек в регуляции свертывания крови и фибринолиза // Система свертывания крови и фибринолиз. – Саратов, 1975. С. 357–358.
160. Спиричева Н.В., Аксенова М.В., Орлов О.Н., Бурбаева Г.Ш., Ерин А.Н. Повреждение креатинфосфокиназы синаптосом мозга крыс при активации молекулярного кислорода // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1989. № 6. С. 680–682.
161. Струков А.И., Бегларян А.Г. Патологическая анатомия и патогенез коллагеновых болезней. – М.: Медгиз, 1963. 323 с.
162. Струкова С.М., Умарова Б.А., Голубева М.Г., Кулибали М., Калишевская Т.М. Влияние гепарина на активацию противосвертывающей системы альфа-тромбином // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1986. № 12. С. 649–652.
163. Струкова С.М., Умарова Б.А., Голубева М.Г., Дугина Т.Н., Башков Г.В., Кулибали М. Ингибирование антитромбином III реакции возбуждения тромбином противосвертывающей системы // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1987. № 3. С. 268–270.
164. Струкова С.М., Хлгатян С.В., Зайцев С.В. Связывание меченного ФИТЦ альфа-тромбина перитонеальными тучными клетками // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1991. № 10. С. 385–387.
165. Суровикина М.С., Масликова Г.В., Лапшина И.И., Фомина Е.Е., Холод О.Л., Линькова М.И. Гепарин и кининовая система // Поражение сосудистой стенки и гемостаз. – М., 1983. С. 300–303.
166. Суряднова Б.А., Гольдберг Г.А. Некоторые вопросы

- механизма действия гепарина при стенокардии // Гепарин. Физиология, биохимия, фармакология, клиническое применение. – М., 1973. С.290–292.
167. Сухоруков В.П., Бельченко Д.И., Симкин Д.С. О механизме адаптивного действия гепарина при постгеморрагической гипертензии // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1973. № 7. С.27.
168. Тараненко В.М., Талаева Т.В., Тишкун С.В., Братусь В.В. Влияние гиперхолестеринемии на электрические и сократительные свойства сосудистой стенки // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1989. № 10. С. 400–402.
169. Тимошенко Л.И. Продукты расщепления фибриногена и их биологическое значение // Лабораторное дело. – 1976. № 9. С. 515–520.
170. Титов В.Н., Санфирова В.Н. Биологическая роль и диагностическое значение фибронектина крови // Лабораторное дело. 1984. № 10. С. 579–587.
171. Уголов А.Т., Дудченко А.М., Белоусова В.В., Лукьянова Л.Д. Влияние эмоционально-болевого стресса на индукцию цитохрома Р-450 в печени крыс // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1989. № 7. С. 48–50.
172. Ульянов А.М., Шапиро Ф.Б., Базазьян Г.Г. Снижение чувствительности к гипогликемическому действию инсулина у животных с пониженной концентрацией гепарина в крови // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1987. № 5. С. 522–524.
173. Умарова Б.А., Шапиро Ф.Б., Хлгатян С.В., Струкова С.М. Включение 35-S-гепарина в тучные клетки крысы и выделение его в кровеносные сосуды // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1989. № 12. С. 648–651.
174. Умарова Б.А., Хлгатян С.В., Струкова С.М. Стимуляция альфа-тромбином секреции гепарина перитонеальными тучными клетками крыс // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1989. № 2. С. 131–133.
175. Федоров Н.А., Радуловацкий М.Г., Чехович Г.Е. Циклические нуклеотиды и их аналоги в медицине. – М.: Медицина, 1990. 191 с.
176. Федорова Э.Д., Туманская З.М. Применение гепарина в комплексной терапии акушерских коагулопатических кровотечений // Гепарин. Физиология, биохимия, фармакология, клиническое применение. – М., 1973. С. 316–317.
177. Федорова Э.Д., Папаян Л.П., Шитикова А.С., Польнская И.В., Петрова С.И. Иммунологические исследования в коагулологии // Актуальные проблемы гемостазиологии. – М., 1981. С. 177–186.
178. Фельдбаум В.А. Влияние гепарина на метаболизм и функцию форменных элементов крови // Гепарин. Физиология, биохимия, фармакология, клиническое применение. – М., 1973. С. 319–320.
179. Феоктистов И.А., Волгушев С.А., Карпов Р.С. Влияние липопротеидов высокой плотности на тромбининдуцированную агрегацию тромбоцитов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1991. № 5. С. 485–486.
180. Феоктистов И.А., Пол С., Холлистер А.С., Робертсон Д., Биаджони И. Механизм действия аденоцина на внутриклеточный кальций и агрегацию тромбоцитов // Кардиология. 1991. № 11. С. 76–79.

181. Фролов В.А., Пухлянко В.П., Казанская Т.А. Изменения митохондрий миокарда в динамике фибрилляций желудочков сердца // Архив патологии. 1986. № 1. С.19–24.
182. Целуйко В.И., Волков В.И., Симиренко Л.Л., Володось Н.Л. Простагландины и тромбоксан при коронарном атеросклерозе // Кардиология. 1987. № 10. С. 36–39.
183. Чазов Е.И. Тромбозы и эмболии в клинике внутренних болезней. – М.: Медицина, 1966. 264 с.
184. Чазов Е.И., Лакин К.М. Антикоагулянты и фибринолитические средства. – М.: Медицина, 1977. 312 с.
185. Черняев А.Л. Миоглобин миокарда и скелетной мускулатуры // Архив патологии. 1988. № 1. С. 82–87.
186. Чувикова В.Т., Креминская Н.К. Влияние гепарина на функциональное состояние сердца и эластические свойства крупных артерий при ревматизме // Тромбоэмбологическая болезнь, свертываемость крови и кровотечения. – Киев, 1967. С. 134–135.
187. Чулкова Т.М., Панасюк А.Ф. Изучение взаимодействия липопротеидов низкой плотности с иммобилизованными фибриногеном и фибронектином методом иммуноферментного анализа // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1987. № 9. С. 309–311.
188. Шалаев С.В. Антиагреганты в профилактике инфаркта миокарда: результаты перспективных исследований // Кардиология. 1989. № 9. С. 116–120.
189. Шварц А. Биология ишемии миокарда и сердечной недостаточности. Механизм действия сердечных гликоцидов и терапевтическое применение нового ионфора (РО 2–2985) // Метаболизм миокарда. – М., 1977. С. 348–374.
190. Шестаков В.А., Бурыкина И.А., Александрова Н.П. Гепарин и электрофоретическая подвижность форменных элементов крови у больных с тромбозом глубоких вен и тромбоэмбологическими осложнениями // Гепарин. Физиология, биохимия, фармакология, клиническое применение. – М., 1973. С. 350–351.
191. Шокарева Г.В., Конакбаева Т.Н., Исхаков К.М. Изменение содержания гистамина и серотонина в динамике у больных острым инфарктом миокарда при лечении стрептодеказой, финоптином и альфа-токоферола ацетатом // Терапевтический архив. 1992. № 8. С.18–20.
192. Шхвацабая И.К. Гипертоническая болезнь // Руководство по кардиологии. – М., 1982. Т. 4. С. 5–65.
193. Щепотин Б.М., Ена Я.М. Функциональная характеристика и клиническое значение бета-тромбоглобулина // Терапевтический архив. 1987. № 6. С. 138–142.
194. Щепотин Б.М., Ена Я.М., Заринская В.Н. Клинико-гемореологические аспекты течения гипертонической болезни // Кардиология. 1989. № 9. С. 18–21.
195. Юранек И.О., Федоров Н.А., Титов М.И., Дейгин В.И. Зависимость реакции агрегации тромбоцитов от фибронектина плазмы и трипептида аргинил-глицил-аспаргиллин // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1989. № 5. С. 536–537.
196. Abrahams JM, Torchia MB, Mc Garvey M, Putt M, Baranov D, Sinson GP. Perioperative assessment of

- coagulability in neurosurgical patients using thromboelastography // Surg Neurol 2002 Jul; 58(1): 5–11; discussion 11–2.
197. Ahmad S; Jeske WP; Walenga JM; Aldabbagh A; Iqbal O; Fareed J. Human anti-heparin-platelet factor 4 antibodies are capable of activating primate platelets: towards the development of a HIT model in primates // Thromb Res, 2000 Oct 1, Vol. 100(1). Pp. 47–54.
- 198 Alric C; Pecher C; Tack I; Schanstra JP; Bascands JL; Girolami JP. Inhibition of cGMP accumulation in mesangial cells by bradykinin and tyrosine kinase inhibitors.// Int J Mol Med, 1999 Nov, Vol. 4(5). Pp. 557–64.
199. Astrup T., Jespersen J. Thrombosis, disseminated intravascular coagulation, and the dynamic haemostatic balance. Aspects of prophylaxis and treatment // Int. Angiol. 1984.– V. 3. № 4. P. 331–342.
200. Bale M.B., Mosher D.F. Thrombospondin is a Substrate for Factor XIIIa // Thrombosis and Haemostasis. 1984. V. 54, № 1. P. 3(08).
201. Bale M.B., Mosher D.F. Copolymerisation of Thrombospondin and Fibrin // Thrombosis and Haemostasis. 1985. V. 54, № 1. P. 2(03).
202. Bark N; Füldes-Papp Z; Rigler R. The incipient stage in thrombin-induced fibrin polymerization detected by FCS at the single molecule level.// Biochem Biophys Res Commun, 1999 Jun 24, Vol. 260(1). Pp. 35–41.
203. Barnes NC; Smith LJ. Biochemistry and physiology of the leukotrienes.// Clin Rev Allergy Immunol, 1999 Spring–Summer, Vol. 17(1–2). Pp. 27–42.
204. Bataineh A; Raji L. Angiotensin II, nitric oxide, and end-organ damage in hypertension.// Kidney Int Suppl, 1998 Dec, Vol. 68Pp. 14–9.
205. Benzakour O; Kanthou C. The anticoagulant factor, protein S, is produced by cultured human vascular smooth muscle cells and its expression is up-regulated by thrombin.// Blood, 2000 Mar 15, Vol. 95(6). Pp. 2008–14.
206. Bickel G. La medication anticoagulante son etat present et son avenir // Vie med. – 1972. – V. 53, № 38. P. 4845–4856.
207. Bisgaard H., Groth S., Taudorf E., Madsen F. The possible role of LTD₄ in asthma in humans investigated in vivo // Biomedica Biochemica Acta. 1984. №8/9. P.327–330.
208. Block H.U., Sziegoleit W., Mest H.J. Estimation of tyromboxane, B-2 in the clotting human whole blood by gas chromatography // Biomedica Biochemica Acta. 1984. №8/9. P.385–388.
209. Born G.V.R. Фотометрический метод графической регистрации процесса агрегации тромбоцитов // Лабораторные методы исследования системы гемостаза. Томск. 1980. С. 83–84.
210. Born G.V.R. The role of the platelet // Z. Cardiol. 1984, V. 73, Suppl. P. 29–32.
211. Born G.V.R. Platelets and Blood Vessels // J. cardiovasc. Pharmacol. 1984, №6, Suppl. 4. P. 706–713.
212. Briaud SA; Ding ZM; Michael LH; Entman ML; Daniel S; Ballantyne CM. Leukocyte trafficking and myocardial reperfusion injury in ICAM-1/P-selectin knockout mice.// Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2001 Jan, Vol. 280(1). Pp. 60–7.

213. Bredy-Dobreva G., Zafirov D. Effect of PGF-2 on isolated renal artery from rabbit // Biomedica Biochimica Acta. 1984. № 8/9. 3. 307–310.
214. Buluk K., Malofiejew M. Gtrzmywanie aktywatora fibrinolisy w norce poza ustrojem (aktywator fibrinoliny wirolowaney nerce) // Acta Physiologica Polonica. – 1963, V. 14, № 4. P.371.
215. Bujevacki G., Sultan Y., Izrael V. Coagulation intravasculaire disseminee et fibrinolyse au cours des leucemie aigues // Nouv Rev. franc. Hemat. – 1979, – V. 20, № 4. P. 575–584.
216. Byrum RS; Goulet JL; Snouwaert JN; Griffiths RJ; Koller BH. Determination of the contribution of cysteinyl leukotrienes and leukotriene B₄ in acute inflammatory responses using 5-lipoxygenase and leukotriene A₄ hydrolase-deficient mice.// J Immunol, 1999 Dec 15, Vol. 163(12). Pp. 68109.
217. Canning MO; Grotenhuis K; De Haan-Meulman M; De Wit HJ; Bergkout A; Drexhage HA. An abnormal adherence of monocytes to fibronectin in thyroid autoimmunity has consequences for cell polarization and the development of veiled cells.// Clin Exp Immunol, 2001 Jul, Vol. 125(1). Pp. 108.
218. Cannon P.J. Eicosanoids and the blood vessel wall // Circulation. 1984, V. 70, №4. P. 523–528.
219. Castellino FJ. Gene targeting in hemostasis: protein C.// Front Biosci, 2001 Jul 1, Vol. 6Pp. 807–19.
220. Cavalcante MC; Allodi S; Valente AP; Straus AH; Takahashi HK; Mourro PA; Pavro MS. Occurrence of heparin in the invertebrate styela plicata (Tunicata) is restricted to cell layers facing the outside environment. An ancient role in defense?// J Biol Chem, 2000 Nov 17, Vol. 275(46). Pp. 36189–6.
221. Chen S; Gong J; Liu F; Mohammed U. Naturally occurring polyphenolic antioxidants modulate IgE-mediated mast cell activation.// Immunology, 2000 Aug, Vol. 100(4). Pp. 471–80.
222. Chevalier D; Lo-Guidice JM; Sergent E; Allorge D; Debuysser H; Ferrari N; Libersa C; Lhermitte M; Broly F. Identification of genetic variants in the human thromboxane synthase gene (CYP5A1).// Mutat Res, 2001 Jan, Vol. 432(3–4). Pp. 61–7.
223. Cho W. Structure, function, and regulation of group V phospholipase A(2).// Biochim Biophys Acta, 2000 Oct 31, Vol. 1488(12). Pp. 48–58.
224. Chuang JL; Schleef RR. Adenovirus-mediated expression and packaging of tissue-type plasminogen activator in megakaryocytic cells.// Thromb Haemost, 2001 Jun, Vol. 85(6). Pp. 107985.
225. Clagett G.P., Salman E.W. Prevention of Venous Thromboembolism // Progr. Cardiovac. Dis. 1975, V. 17, № 5. P. 345–366.
226. Coffey MJ; Phare SM; Cinti S; Peters-Golden M; Kazanjian PH. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor upregulates reduced 5-lipoxygenase metabolism in peripheral blood monocytes and neutrophils in acquired immunodeficiency syndrome.// Blood, 1999 Dec 1, Vol. 94(11). Pp. 3897–905.
227. Common H.H., Seaman A.J., Rosch J., Porter J.M., Dotter Ch.T. Deep Vein Thrombosis Treated with Streptokinase or Heparin // Angiologi. 1976, V. 27, № 11. P. 645–654.

228. Constantin G; Majeed M; Giagulli C; Piccio L; Kim JY; Butcher EC; Laudanna C Author's Chemokines trigger immediate beta2 integrin affinity and mobility changes: differential regulation and roles in lymphocyte arrest under flow.// *Immunity*, 2000 Dec, Vol. 13(6). Pp. 759–69.
229. Contesse V; Lefebvre H; Lenglet S; Kuhn JM; Delarue C; Vaudry H. Role of 5-HT in the regulation of the brainpituitary–adrenal axis: effects of 5-HT on adrenocortical cells // *Can J Physiol Pharmacol*, 2000 Dec, Vol. 78(12). Pp. 967–83.
230. Cooper J.D., Teasdale S., Nelems J.M., Glynn M.F.X., Mac Gregor D.C., Duffin J., Scott A.A. Cardiorespiratory Failure secondary to peripheral pulmonary emboly // *The Journal of Thoracic and Cardio vascular Surdger*. – 1976, – V. 71, № 6. P. 872–877.
231. Corbett SA; Schwarzbauer JE. Requirements for alpha(5)beta(1) integrinmediated retraction of fibronectin–fibrin matrices.// *J Biol Chem*, 1999 Jul 23, Vol. 274(30). Pp. 20943–8.
232. Corvera CU; Díry O; McConalogue K; Gamp P; Thoma M; Al-Ani B; Caughey GH; Hollenberg MD; Bunnett NW. Thrombin and mast cell tryptase regulate guineapig myenteric neurons through proteinaseactivated receptors–1 and –2.// *J Physiol*, 1999 Jun 15, Vol. 517 (Pt 3)Pp. 74156.
233. Cotto A.K., Phil D. Directions of Atherosclerosis Research in the 1980s and 1990s // *Circulation*. 1984, – V. 70, 5p 11. P. 88–94.
234. Cusack NJ; Hourani SM. Platelet P2 receptors: from curiosity to clinical targets // *J Auton Nerv Syst*, 2000 Jul 3, Vol. 81(1–3). Pp. 37–43.
235. Day FL; Rafty LA; Chesterman CN; Khachigian LM. Angiotensin II (ATII)-inducible plateletderived growth factor A-chain gene expression is p42/44 extracellular signal-regulated kinase1/2 and Egr-1-dependent and mediated via the ATII type 1 but not type 2 receptor. Induction by ATII antagonized by nitric oxide.// *J Biol Chem*, 1999 Aug 20, Vol. 274(34). Pp. 23726–33.
236. De Clerck F., David J.L. Pharmacological control of platelet and red blood cell function in the microcirculation // *J. cardiovasc. Pharmacol.* – 1981, – V. 3, № 6. P. 1388.
237. de Haan J; van Oeveren W. Platelets and soluble fibrin promote plasminogen activation causing downregulation of platelet glycoprotein Ib/IX complexes: protection by aprotinin.// *Thromb Res*, 1998 Nov 15, Vol. 92(4). Pp. 171–9.
238. Dembinska-Kiec A., Korbut R., Zmuda A., Koteka-Trabka E., Simmet T., Peskar B.A. Formation of lipoxygenase and cyclooxygenase metabolitis of arachidonic acid by brain tissue // *Biomedica Biochimicf Acta*. 1984, № 8/9. P. 222–226.
239. Durbán MG; Gómez GG; de Frutos T; Díaz Recasén J; Casado S; López Farré A. 17 Beta-estradiol-stimulated nitric oxide production by neutrophils: effect on platelet activation.// *Obstet Gynecol*, 2000 Feb, Vol. 95(2). Pp. 28490.
240. Edson J.R. Mechanisms and Dynamics of Intravascular Coagulation // *Geriatrice*. – 1974, V. 29, № 2. P. 65–78.
241. Elovitz MA; Ascher-Landsberg J; Saunders T; Phillippe M. The mechanisms underlying the stimulatory effects of thrombin on myometrial smooth muscle // *Am J Obstet Gynecol*, 2000 Sep, Vol. 183(3). Pp. 674–81.

242. Fabre JE; Nguyen M; Athirakul K; Coggins K; McNeish JD; Austin S; Parise LK; Fitz Gerald GA; Coffman TM; Koller BH. Activation of the murine EP3 receptor for PGE2 inhibits cAMP production and promotes platelet aggregation // *J Clin Invest*, 2001 Mar, Vol. 107(5). Pp. 60310.
243. Faraday N; Scharpf RB; Dodd-o JM; Martinez EA; Rosenfeld BA; Dorman T. Leukocytes can enhance platelet-mediated aggregation and thromboxane release via interaction of P-selectin glycoprotein ligand 1 with P-selectin.// *Anesthesiology*, 2001 Jan, Vol. 94(1). Pp. 14551.
244. Fernandez-Patron C; Zhang Y; Radomski MW; Hollenberg MD; Davidge ST. Rapid release of matrix metalloproteinase (MMP)2 by thrombin in the rat aorta: modulation by protein tyrosine kinase/phosphatase // *Thromb Haemost*, 1999 Oct, Vol. 82(4). Pp. 13537.
245. Фермилен Ж., Ферстрате – М. Гемостаз. Перевод с франц. – М.: Медицина, 1984, 192с.
246. Фетковска Н., Себекова К., Тисри П., Дзурик Р. Эффекты эстулика на агрегацию тромбоцитов и активность адренергических и серотонинергических систем 3 // Сандоз ревю. 1991, № 2. С. 36–42.
247. Fareed J; Hoppensteadt DA; Jeske WP; Ahmad S; Bick RL. Acquired defects of fibrinolysis associated with thrombosis // *Semin Thromb Hemost*, 1999, Vol. 25(4). Pp. 36774.
248. Fitscha P, Kaliman J, Sinzinger H. Is gamma-camera imaging of platelet deposition useful to assess the effectiveness of prostacyclin treatment // *Biomedica Biochimica Acta*. 1984, № 8/9. P. 403–408.
249. Fitzgerald G.A., Smith B., Pedersen B., Brash A.R. Increased prostacyclin biosynthesis in patients with severe atherosclerosis and plateled activation // *New Engl. J. Med.* 1984, – V. 310, № 17. P. 1065–1068.
250. Fiumelli H; Jabaudon D; Magistretti PJ; Martin JL. BDNF stimulates expression, activity and release of tissue-type plasminogen activator in mouse cortical neurons.// *Eur J Neurosci*, 1999 May, Vol. 11(5). Pp. 163946.
251. Forsberg E; Pejler G; Ringvall M; Lunderius C; Tomasini-Johansson B; Kusche-Gullberg M; Eriksson I; Ledin J; Hellman L; Kjellén L. Abnormal mast cells in mice deficient in a heparin-synthesizing enzyme.// *Nature*, 1999 Aug 19, Vol. 400(6746). Pp. 773–6.
252. Forster W. Preface in IV th International on Prostaglandin, Thromboxanes and Leukotrienes in Cardiovascular System // *Biomedica Biochimica Acta*. 1984, № 8/9. P. 109–112.
253. Forsythe P; Gilchrist M; Kulka M; Befus AD. Mast cells and nitric oxide: control of production, mechanisms of response.// *Int Immunopharmacol*, 2001 Aug, Vol. 1(8). Pp. 1525–41.
254. Foster CJ; Prosser DM; Agans JM; Zhai Y; Smith MD; Lachowicz JE; Zhang FL; Gustafson E; Monsma FJ Jr; Wiekowski MT; Abbondanzo SJ; Cook DN; Bayne ML; Lira SA; Chintala MS. Molecular identification and characterization of the platelet ADP receptor targeted by thienopyridine antithrombotic drugs.// *J Clin Invest*, 2001 Jun, Vol. 107(12). Pp. 15918.
255. Фред Дж. Шифф. Патофизиология крови. 2000.
256. Freedman JE; Li L; Sauter R; Keaney JF JR. Alpha-Tocopherol and protein kinase C inhibition enhance platelet-derived nitric oxide release // *FASEB J*, 2000 Dec, Vol. 14(15). Pp. 2377–9.

258. Frumento RJ, Hirsh AL, Parides MK, Bennett-Guerrero E. Differences in arterial and venous thromboelastography parameters: Potential roles of shear stress and oxygen content.// *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2002 Oct; 16(5): 551–4.
259. Geiger J. Inhibitors of platelet signal transduction as anti-aggregatory drugs.// *Expert Opin Investig Drugs*, 2001 May, Vol. 10(5). Pp. 865–90.
260. Gentilini G; Kirschbaum NE; Augustine JA; Aster RH; Visentin GP. Inhibition of human umbilical vein endothelial cell proliferation by the CXC chemokine, platelet factor 4 (PF4), is associated with impaired downregulation of p21 (Cip1/WAF1) // *Blood*, 1999 Jan 1, Vol. 93(1). Pp. 25–33.
261. Gesualdo L; Ranieri E; Monno R; Rossiello MR; Colucci M; Semeraro N; Grandaliano G; Schena FP; Ursi M; Cerullo G. Angiotensin IV stimulates plasminogen activator inhibitor-1 expression in proximal tubular epithelial cells // *Kidney Int*, 1999 Aug, Vol. 56(2). Pp. 461–70.
262. Gillitzer R; Goebeler M. Chemokines in cutaneous wound healing.// *J Leukoc Biol*, 2001 Apr, Vol. 69(4). Pp. 513–21.
263. Goos H., Krause E.G., Bcuerdorfer I., Lindenman K.P., Hohnig J., Schimke J., Wagenknecht L., Parsi R.A. Improved protection in myocardial ischemia by combined prostacyclin administration and intrasortic balloon pumping // *Biomedica Biochimica Acta*. 1984, № 8/9. P.159–162.
264. Grandaliano G; Monno R; Ranieri E; Gesualdo L; Schena FP; Martino C; Ursi M. Regenerative and proinflammatory effects of thrombin on human proximal tubular cells.// *J Am Soc Nephrol*, 2000 Jun, Vol. 11(6). Pp. 1016–25.
265. Grzeszkiewicz TM; Kirschling DJ; Chen N; Lau LF. CYR61 stimulates human skin fibroblast migration through Integrin alpha vbeta 5 and enhances mitogenesis through integrin alpha vbeta 3, independent of its carboxyl-terminal domain.// *J Biol Chem*, 2001 Jun 15, Vol. 276(24). Pp. 21943–50.
266. Gurewich V. Guidelienes for the Management of Anticoagulant Therapy // *SeminareThromb. Hemostas.* – 1976, – V. 2. №3. P.176–196.
267. Haribabu B; Verghese MW; Steeber DA; Sellars DD; Bock CB; Snyderman R. Targeted disruption of the leukotriene B(4) receptor in mice reveals its role in inflammation and platelet-activating factor induced anaphylaxis.// *J Exp Med*, 2000 Aug 7, Vol. 192(3). Pp. 433–8.
268. Heene D.L., Genth K. Diagnostische Bedeutung der proteolytischen Abdsprodukte des Fibrinogens und Fibrins // *Internist (Berl.)* 1984, Bd. 25, № 2. – S. 93–101.
269. Hepner DL, Concepcion M, Bhavani-Shankar K. Coagulation status using thromboelastography in patients receiving warfarin prophylaxis and epidural analgesia.// *J Clin Anesth* 2002 Sep;14(6):405.
270. Heptinstall S. Properties of blood platelets that may be relevant to atherogenesis // *Vasa*. 1984, V. 13, № 4. P. 343–349.
271. Herou Y; Mellios P; Bandemir E; Stetter C; Dichmann S; Idzko M; Hofmann C; Vanscheidt W; Schopf E; Norgauer J. Autologous platelet-derived wound healing factor promotes angiogenesis via alphavbeta3integrin expression in chronic wounds.// *Int J Mol Med*, 2000 Nov, Vol. 6(5). Pp. 515–9.

272. Hocking DC; Sottile J; Reho T; Fdssler R; McKeown–Longo PJ. Inhibition of fibronectin matrix assembly by the heparin-binding domain of vitronectin.// *J Biol Chem*, 1999 Sep 17, Vol. 274(38). Pp. 27257–64.
273. Hsu JY; Hsu MY; Sorger T; Herlyn M; Levine EM. Heparin/endothelial cell growth supplement regulates matrix gene expression and prolongs life span of vascular smooth muscle cells through modulation of interleukin-1.// *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 1999 Nov–Dec, Vol. 35(10). Pp. 647–54.
274. Huang YQ; Li JJ; Karpatkin S. Thrombin inhibits tumor cell growth in association with up-regulation of p21(waf/cip1) and caspases via a p53-independent, STAT-1dependent pathway.// *J Biol Chem*, 2000 Mar 3, Vol. 275(9). Pp. 64628.
275. Humphries DE; Wong GW; Friend DS; Gurish MF; Qiu WT; Huang C; Sharpe AH; Stevens RL. Heparin is essential for the storage of specific granule proteases in mast cells.// *Nature*, 1999 Aug 19, Vol. 400(6746). Pp. 769–72.
276. Ito F; Toyota N; Sakai H; Takahashi H; Iizuka H. FK506 and cyclosporin A inhibit stem cell factor-dependent cell proliferation/survival, while inducing upregulation of c-kit expression in cells of the mast cell line MC/9.// *Arch Dermatol Res*, 1999 May, Vol. 291(5). Pp. 275–83.
277. Ito T., Ogawa K., Watenabe J., Chen L.S., Shikano M., Imaisumi M., Shibata T., Ito Y., Miozaki Y., Satake T. Selective thromboxane synthetase inhibitor and ischemic heard disease // *Biomedica Biochemica Acta*. 1984. № 8/9. P. 125–132.
278. Jordö L., Olsson R. The effect of long-Term Heparin administration on Experimental Liver Fibrosis in Rate // *Digestion*. 1972, V. 7, № 3–4. P. 204–211.
279. Judd BA; Myung PS; Leng L; Obergfell A; Pear WS; Shattil SJ; Koretzky GA. Hematopoietic reconstitution of SLP-76 corrects hemostasis and platelet signaling through alpha IIb beta 3 and collagen receptors // *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000 Oct 24, Vol. 97(22). Pp. 12056–61.
280. Kahn N; Sinha A; Bauman W. Impaired platelet prostacyclin receptor activity: a monozygotic twin study discordant for spinal cord injury.// *Clin Physiol*, 2001 Jan, Vol. 21(1). Pp. 60–6.
281. Kang HM; Choi KS; Kassam G; Fitzpatrick SL; Kwon M; Waisman DM. Role of annexin II tetramer in plasminogen activation.// *Trends Cardiovasc Med*, 1999 Apr–May, Vol. 9(34). Pp. 92–102.
282. Kelley JL; Chi DS; Abou-Auda W; Smith JK; Krishnaswamy G. The molecular role of mast cells in atherosclerotic cardiovascular disease.// *Mol Med Today*, 2000 Aug, Vol. 6(8). Pp. 304–8.
283. Kermode JC; Zheng Q; Milner EP. Marked temperature dependence of the platelet calcium signal induced by human von Willebrand factor.// *Blood*, 1999 Jul 1, Vol. 94(1). Pp. 199–207.
284. Kinashi T; Asaoka T; Setoguchi R; Takatsu K. Affinity modulation of very late antigen-5 through phosphatidylinositol 3-kinase in mast cells.// *J Immunol*, 1999 Mar 1, Vol. 162(5). Pp. 2850–7.
285. Kojima H; Shinagawa A; Shimizu S; Kanada H; Hibi M; Hirano T; Nagasawa T. Role of phosphatidylinositol-3 kinase and its association with Gab1 in thrombo-poitinmediated up-regulation of platelet function.// *Exp Hematol*, 2001 May, Vol. 29(5). Pp. 616–22.

286. Koller F. Zur Diagnostik der D.I.C. // *Folia haematol.* (Ipz.) 1977, V. 104, № 6. –P. 839–850.
287. Koopmann W; Ediriwickrema C; Krangel MS. Structure and function of the glycosaminoglycan binding site of chemokine macrophageinflammatory protein-1 beta.// *J Immunol*, 1999 Aug 15, Vol. 163(4). Pp. 2120–7.
288. Kovace I.B., O'Grady J. Impaired red blood cell difformability after oral administration of aspirin in man // *Biomedica Biochimica Acta*. 1984, № 8/9. P. 395–398.
289. Krasnikova TL; Parfyonova Y; Alekseeva IA; Arefieva TI; Mukhina SA; Dobrovolsky AB; Titaeva Y; Lyakishev AA; Resink TJ; Erne P; Tkachuk VA. Urokinase plasminogen activator system in humans with stable coronary artery disease.// *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 1999 Apr, Vol. 26(4). Pp. 354–7.
290. Krzeminski T., Brus R., Juraszczuk Z., Kurcok A., Pogorzelska T. Role of H-2 receptors in the central and peripheral effects of prostacyclin (PGI-2) on circulatory system in rats // *Biomedica Biochimica Acta*. 1984. № 8/9. P. 199–202.
291. Kuhn H., Ponick K., Schewe T., Forster W. The possible biological importance of lipoxygenase pathway in aorta endothelial cells // *Biomedica Biochimica Acta*. 1984, № 8/9. P. 304–306.
292. Kuhns DB; Nelson EL; Alvord WG; Gallin JI. Fibrinogen Induces IL-8 Synthesis in Human Neutrophils Stimulated with Formyl-MethionylLeucyl-Phenylalanine or Leukotriene B(4).// *J Immunol*, 2001 Sep 1, Vol. 167(5). Pp. 2869–78.
293. Nakao A; Watanabe T; Ohishi N; Toda A; Asano K; Taniguchi S; Nosaka K; Noiri E; Suzuki T; Sakai T; Kurokawa K; Shimizu T; Kimura S. Ubiquitous localization of leukotriene A4 hydrolase in the rat nephron.// *Kidney Int*, 1999 Jan, Vol. 55(1). Pp. 100–8.
294. Nobukata H; Katsuki Y; Ishikawa T; Inokuma M; Shibutani Y. Effect of dienogest on bleeding time, coagulation, fibrinolysis, and platelet aggregation in female rats // *Toxicol Lett*, 1999 Jan 11, Vol. 104(1–2). Pp. 93–101.
295. Leese PT; Hubbard RC; Karim A; Isakson PC; Yu SS; Geis GS. Effects of celecoxib, a novel cyclooxygenase-2 inhibitor, on platelet function in healthy adults: a randomized, controlled trial.// *J Clin Pharmacol*, 2000 Feb, Vol. 40(2). Pp. 12432.
296. Li CQ; Vindigni A; Sadler JE; Wardell MR. Platelet glycoprotein Ib alpha binds to thrombin anion-binding exosite II inducing allosteric changes in the activity of thrombin.// *J Biol Chem*, 2001 Mar 2, Vol. 276(9). Pp. 61618.
297. Lougovskoi EV; Gogolinskaya GK. Preparation of fibrin des-AA by thrombin.// *Ukr Biokhim Zh*, 1999 Jul–Aug, Vol. 71(4). Pp. 107–8.
298. Ludwicka-Bradley A; Tourkina E; Suzuki S; Tyson E; Bonner M; Fenton JW; Hoffman S; Silver RM. Thrombin upregulates interleukin-8 in lung fibroblasts via cleavage of proteolytically activated receptor-I and protein kinase C-gamma activation.// *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2000 Feb, Vol. 22(2). Pp. 235–43.
299. Macey MG; Carty E; Webb L; Chapman ES; Zelmanovic D; Okrongly D; Rampton DS; Newland AC. Use of mean platelet component to measure platelet activation on the ADVIA 120 haematology system.// *Cytometry*, 1999 Oct 15, Vol. 38(5). Pp. 250–5.

300. Madamanchi NR; Li S; Patterson C; Runge MS. Thrombin regulates vascular smooth muscle cell growth and heat shock proteins via the JAK–STAT pathway.// *J Biol Chem*, 2001 Jun 1, Vol. 276(22). Pp. 18915–24.
301. Magness RR; Shideman CR; Habermehl DA; Sullivan JA; Bird IM. Endothelial vasodilator production by uterine and systemic arteries. V. Effects of ovariectomy, the ovarian cycle, and pregnancy on prostacyclin synthase expression.// *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, 2000 Mar, Vol. 60(4–6). Pp. 103–18.
302. Mahaut-Smith MP; Ennion SJ; Rolf MG; Evans RJ. ADP is not an agonist at P2X(1) receptors: evidence for separate receptors stimulated by ATP and ADP on human platelets.// *Br J Pharmacol*, 2000 Sep, Vol. 131(1). Pp. 10814.
303. Malomvolgyi B., Hadhazy P., Magyar K. Effects of cyclooxygenase inhibitors and PGI-2 on the adrenergic contractions of isolated rabbit arteries // *Biomedica Biochimica Acta*. 1984, № 8/9. P. 277–280.
304. Maragoudakis ME; Tsopanoglou NE. On the mechanism(s) of thrombin induced angiogenesis.// *Adv Exp Med Biol*, 2000, Vol. 476Pp. 47–55.
305. Marx N; Bourcier T; Sukhova GK; Libby P; Plutzky J. PPARgamma activation in human endothelial cells increases plasminogen activator inhibitor type 1 expression: PPARgamma as a potential mediator in vascular disease.// *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999 Mar, Vol. 19(3). Pp. 546–51.
306. Matsubayashi H; Fastenau DR; McIntyre JA. Changes in platelet activation associated with left ventricular assist system placement.// *J Heart Lung Transplant*, 2000 May, Vol. 19(5). Pp. 462–8.
307. Matsuyama T; Izumi Y; Shibatake K; Yotsumoto Y; Obama H; Uemura M; Maruyama I; Sueda T. Expression and activity of thrombomodulin in human gingival epithelium: in vivo and in vitro studies.// *J Periodontal Res*, 2000 Jun, Vol. 35(3). Pp. 146–57.
308. McLennan SV; Fisher E; Martell SY; Death AK; Williams PF; Lyons JG; Yue DK. Effects of glucose on matrix metalloproteinase and plasmin activities in mesangial cells: possible role in diabetic nephropathy.// *Kidney Int*, 2000 Sep, Vol. 58 Suppl 77Pp. 81–7.
309. Mentz P., Pawelski K.E., Gissler C.H. Drug induced inhibition of the cardiac effects of V. 46619 as a thromboxane A₂ – like agonist // *Biomedica Biochimica Acta*. 1984, № 8/9. P. 163–166.
310. Mentz P., Pawelski K.E., Giessler C.H., Orlowa Z.R., Geling N.G., Taube C.H. Significance of myocardial prostaglandin biosynthesis and the influence of mechanical Loading, endogenous mediators and cardiovascular drugs // *Biomedica BiochimicaActa*. 1984, № 8/9. P. 147–150.
311. Mercer-Jones MA; Shrotri MS; Heinzelmann M; Peyton JC; Cheadle WG. Regulation of early peritoneal neutrophil migration by macrophage inflammatory protein-2 and mast cells in experimental peritonitis.// *J Leukoc Biol*, 1999 Feb, Vol. 65(2). Pp. 249–55.
312. Miyakawa Y; Rojnuckarin P; Habib T; Kaushansky K. Thrombopoietin Induces Phosphoinositol 3-Kinase Activation through SHP2, Gab, and Insulin Receptor Substrate Proteins in BAF3 Cells and Primary Murine Megakaryocytes.// *J Biol Chem*, 2001 Jan 26, Vol. 276(4). Pp. 2494502.
313. Monteseirhn J; Llamas E; Sánchez-Monteseirhn H; Bonilla I; Camacho MJ; Conde J; Sobrino F. IgE-

- mediated downregulation of L-selectin (CD62L) on lymphocytes from asthmatic patients.// Allergy, 2001 Feb, Vol. 56(2). Pp. 164–8.
314. Most H.J., Winkler J. Significanse of sympathetic nervous sistem for the central antiarrhythmic effect of sympathetic nervous sistem for the central antiarrhythmic effect of prostaglandin E-2 F-2 and I-2 on aconitine induced cardiac arrhythmias in rate // Biomedica Biochimica Acta. 1984. № 8/9. P. 135–142.
315. Muller B., Maass B., Sturzebecher S., Skuballa W. Antifibrillatory action of the stable orally active prostacyclin analogues Iloprost and ZK 96 480 in rate afster coronary artery ligation // Biomedica Biochimica Acta. 1984. № 8/9. P. 175–178.
316. Мусил Я. Основы биохимии патологических процессов. Перевод с чешск. – М.: Медицина, 1985. 432 с.
317. Nagase H; Miyamasu M; Yamaguchi M; Kawasaki H; Ohta K; Yamamoto K; Morita Y; Glucocorticoids preferentially upregulate functional CXCR4 expression in eosinophils.// J Allergy Clin Immunol, 2000 Dec, Vol. 106(6). Pp. 1132–9.
318. Obama H; Obama K; Takemoto M; Soejima Y; Shirahama T; Ohi Y; Yoshida H; Qzawa M; Muramatsu T; Maruyama I. Expression of Thrombomodulin in the epithelium of the urinary bladder: a possible source of urinary thrombomodulin.// Anticancer Res, 1999 Mar–Apr, Vol. 19(2A). Pp. 1143–7.
319. O'Brien J.R. Микроскопический метод исследования агрегации тромбоцитов // Лабораторные методы исследования системы гемостаза. – Томск, 1980, С. 90–92.
320. O'Donnell VB; Coles B; Lewis MJ; Crews BC; Marnett LJ; Freeman BA. Catalytic consumption of nitric oxide by prostaglandin H synthase-1 regulates platelet function/ / J Biol Chem, 2000 Dec 8, Vol. 275(49). Pp. 38239–44.
321. Ofosu FA; Nyarko KA. Human platelet thrombin receptors. Roles in platelet activation.// Hematol Oncol Clin North Am, 2000 Oct, Vol. 14(5). Pp. 1185–98.
322. Okahara K; Sun B; Kambayashi J. Upregulation of prostacyclin synthesis-related gene expression by shear stress in vascular endothelial cells.// Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1998 Dec, Vol. 18(12). Pp. 1922–6.
323. Park M; Lee ST. The fourth immunoglobulin-like loop in the extracellular domain of FLT-1, a VEGF receptor, includes a major heparin-binding site.// Biochem Biophys Res Commun, 1999 Nov 2, Vol. 264(3). Pp. 730–4.
324. Patel DD; Koopmann W; Imai T; Whichard LP; Yoshie O; Krangell MS. Chemokines have diverse abilities to form solid phase gradients.// Clin Immunol, 2001 Apr, Vol. 99(1). Pp. 43–52.
325. Patscheke H., Stegmeier K.H. Charakterisierung der pharmacologischen Eigenschaften eines Thromboxan – Antagonisten (BM 13. 177) // Therapiewoche. 1984, Bd. 34, № 42 – S. 4937–5937.
326. Patscheke H., Stegmeier K., Muller-Beckmann B., Sponer G., Stalger C., Neugebauer G. Inhibitory effects of the selective thromboxane receptor antagonist BM 13.177 on platelet aggregation and sudden death // Biomedica Biochimica Acta. 1984, №8/9. P. 312–318.
327. Peerschke EI; Ghebrehiwet B. Human blood platelet gC1qR/p33.// Immunol Rev, 2001 Apr, Vol. 180. Pp. 56–64.

328. Pereira M; Simpson-Haidaris PJ. Fibrinogen modulates gene expression in wounded fibroblasts.// Ann N Y Acad Sci, 2001, Vol. 936Pp. 438–43.
329. Phillips DR; Nannizzi-Alaimo L; Prasad KS. Beta3 tyrosine phosphorylation in alphaIIbbeta3 (platelet membrane GP IIb–IIIa) outside–in integrin signaling.// Thromb Haemost, 2001 Jul, Vol. 86(1). Pp. 24658.
330. Piliponsky AM; Levi-Schaffer F. Regulation of apoptosis in mast cells.// Apoptosis, 2000 Nov, Vol. 5(5). Pp. 435–41.
331. Ponicke K., Forster W. Influence of leukotriene C–4 on aggregation and malondialdehyde formation of human blood plateled // Biomedica Biochimica Acta. 1984, № 8/9. P. 459–462.
332. Ramamurthi A; Lewis RS. Influence of agonist, shear rate, and perfusion time on nitric oxide inhibition of platelet deposition.// Ann Biomed Eng, 2000 Feb, Vol. 28(2). Pp. 17481.
- 333.. Rampart M., Zonnekeyn L., Bult H., Herman A.G. Prostacyclin biosynthesis and hypotension in relation to complement activation in rabbit endotoxic shock // Biomedica Biochimica Acta. 1984, № 8/9. P. 191–194.
334. Rao WH; Hales JM; Camp RD. Potent costimulation of effector T lymphocytes by human collagen type I.// J Immunol, 2000 Nov 1, Vol. 165(9). Pp. 4935–40.
335. Reiff DA; Kelpke S; Rue L 3rd; Thompson JA. Acidic fibroblast growth factor attenuates the cytotoxic effects of peroxynitrite in primary human osteoblast precursors // J Trauma, 2001 Mar, Vol. 50(3). Pp. 433–8; discussion 439.
336. Riddell DR; Owen JS. Nitric oxide and platelet aggregation. Vitam Horm, 1999, Vol. 57Pp. 25–48.
337. Ritchie H; Fragoyannis A. Thrombin inhibits apoptosis of monocytes and plasminogen activator inhibitor 2 (PAI–2) is not responsible for this inhibition.// Exp Cell Res, 2000 Oct 10, Vol. 260(1). Pp. 209.
338. Rivera J; Lozano ML; Corral J; González Conejero R; Martínez C; Vicente V. Platelet GP Ib/IX/V complex: physiological role.// J Physiol Biochem, 2000 Dec, Vol. 56(4). Pp. 355–66.
339. Rosskopf D. Sodium–hydrogen exchange and platelet function.// J Thromb Thrombolysis, 1999 Jul, Vol. 8(1). Pp. 15–24.
340. Sakamaki F. [Coagulation and fibrinolytic abnormality related to endothelial injury in pulmonary arterial hypertension] // Nippon Rinsho, 2001 Jun, Vol. 59(6). Pp. 1053–8.
341. Sakamaki F; Kyotani S; Nagaya N; Sato N; Oya H; Satoh T; Nakanishi N. Increased plasma P-selectin and decreased thrombomodulin in pulmonary arterial hypertension were improved by continuous prostacyclin therapy // Circulation, 2000 Nov 28, Vol. 102(22). Pp. 2720–5.
342. Salek-Ardakani S; Arrand JR; Shaw D; Mackett M. Heparin and heparan sulfate bind interleukin-10 and modulate its activity.// Blood, 2000 Sep 1, Vol. 96(5). Pp. 1879–88.
343. Santala A; Saarinen J; Kovanen P; Kuusela P. Activation of interstitial collagenase, MMP-1, by *Staphylococcus aureus* cells having surfacebound plasmin: a novel role of plasminogen receptors of bacteria.// FEBS Lett, 1999 Nov 19, Vol. 461(3). Pp. 153–6.
344. Sarker KP; Yamahata H; Nakata M; Arisato T; Nakajima T; Kitajima I; Maruyama I. Recombinant

- thrombomodulin inhibits thrombininduced vascular endothelial growth factor production in neuronal cells.// Haemostasis, 1999 Nov–Dec, Vol. 29(6). Pp. 34352.
345. Scharrer I. Thromboseprophylaxe mit Antikoagulation // Therapiewoche. 1975. V.26. № 13. P. 1609–1627.
346. Scholkens B.A., Steinbach R., Ganten D. Interactions between brain angiotensin and prostaglandins in rats // Biomedica Biochimica Acta. 1984, № 8/9. P. 203–207.
347. Shimizu M; Hara A; Okuno M; Matsuno H; Okada K; Ueshima S; Matsuo O; Niwa M; Akita K; Yamada Y; Yoshimi N; Uematsu T; Kojima S; Friedman SL; Moriwaki H; Mori H. Mechanism of retarded liver regeneration in plasminogen activator-deficient mice: impaired activation of hepatocyte growth factor after Fas-mediated massive hepatic apoptosis.// Hepatology, 2001 Mar, Vol. 33(3). Pp. 569–76.
348. Shimizu T; Ohkawara A; Mizue Y; Nishihira J. Alpha-thrombin stimulates expression of macrophage migration inhibitory factor in skin fibroblasts.// Semin Thromb Hemost, 1999, Vol. 25(6). Pp. 56973.
349. Shimokawa H. Primary endothelial dysfunction: atherosclerosis.// J Mol Cell Cardiol, 1999 Jan, Vol. 31(1). Pp. 23–37.
350. Shiraga M; Ritchie A; Aidoudi S; Baron V; Wilcox D; White G; Ybarrondo B; Murphy G; Leavitt A; Shattil S. Primary megakaryocytes reveal a role for transcription factor NF-E2 in integrin alpha IIb beta 3 signaling.// J Cell Biol, 1999 Dec 27, Vol. 147(7). Pp. 141930.
351. Smiley ST; King JA; Hancock WW. Fibrinogen stimulates macrophage chemokine secretion through toll-like receptor 4 // J Immunol, 2001 Sep 1, Vol. 167(5). Pp. 2887–94.
352. Smith D.L., Willis A.L., Mahmud I. Eicosanoid effects on cell proliferation in vitro: Relevance to atherosclerosis // Prostagland. Leukot. Med. 1984, – V. 16, № 1 –P. 1–10.
353. Smith E.F. III, Kloster G., Stockin G., Schror K. Effect of Iloprost (ZK 36 374). On Membrane Integrity In Ischemic Rabbit Hearts // Biomedica Biochimica Acta. 1984, № 8/9, P. 155–158.
354. Smyth EM; Austin SC; Reilly MP; Fitzgerald GA. Internalization and sequestration of the human prostacyclin receptor.// J Biol Chem, 2000 Oct 13, Vol. 275(41). Pp. 32037–45.
355. Smith TJ; Parikh SJ. HMC-1 mast cells activate human orbital fibroblasts in coculture: evidence for upregulation of prostaglandin E2 and hyaluronan synthesis.// Endocrinology, 1999 Aug, Vol. 140(8). Pp. 351825.
356. Sobocka MB; Sobocki T; Banerjee P; Weiss C; Rushbrook JI; Norin AJ; Hartwig J; Salifu MO; Markell MS; Babinska A; Ehrlich YH; Kornecki E. Cloning of the human platelet F11 receptor: a cell adhesion molecule member of the immunoglobulin superfamily involved in platelet aggregation.// Blood, 2000 Apr 15, Vol. 95(8). Pp. 2600–9.
357. Soslau G; Schechner AJ; Alcasid PJ; Classen R. Influence of vortex speed on fresh versus stored platelet aggregation in the absence and presence of extracellular ATP.// Thromb Res, 2000 Jan 15, Vol. 97(2). Pp. 15–27.
358. Spisni E; Griffoni C; Santi S; Riccio M; Marulli R; Bartolini G; Toni M; Ullrich V; Tomasi V. Colocalization prostacyclin (PGI2) synthase-caveolin-1 in endothelial cells and new roles for PGI2 in angiogenesis // Exp Cell Res, 2001 May 15, Vol. 266(1). Pp. 3143.

359. Stangl K; Dschietzig T; Alexiou K; Brunner F. Antithrombin increases pulmonary endothelins: inhibition by heparin and Ca²⁺ channel antagonism. // Eur J Pharmacol, 1999 Apr 1, Vol. 370(1). Pp. 57–61.
360. Sterin-Borda L.J., Franchi A.M., Borda E.S., del Castillo E., Gimeno M.P., Gimeno A.L. Prostacyclin, its fatty and precoreor and its metabolites on the inotropic function of and on the prostanoid generation by diabetic arteries / / Biomedica Biochimica Acta. 1984. № 8/9. P. 257–264.
361. Stiernberg J; Norfleet AM; Redin WR; Warner WS; Fritz RR; Carney DH. Acceleration of full-thickness wound healing in normal rats by the synthetic thrombin peptide, TP508. // Wound Repair Regen, 2000 May–Jun, Vol. 8(3). Pp. 204–15.
362. Szekeres L., Koltai M., Pataricza J., Takats I., Udvary Eva. On the late antuschaemic action of the stable PgI-2 analogue: 7-oxo-PgI-2 – Na and its possible mode of action // Biomedica Biochimica Acta. 1984. № 8/9. P. 135–142.
363. Syrovets T; Jendrach M; Rohwedder A; Schyle A; Simmet T. Plasmin-induced expression of cytokines and tissue factor in human monocytes involves AP-1 and IKKbeta-mediated NF-kappaB activation. // Blood, 2001 Jun 15, Vol. 97(12). Pp. 3941–50.
364. Takao K; Takai S; Ishihara T; Mita S; Miyazaki M. Isolation of chymase complexed with physiological inhibitor similar to secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) from hamster cheek pouch tissues // Biochim Biophys Acta, 2001 Feb 9, Vol. 1545(12). Pp. 146–52.
365. Tanihara M; Suzuki Y; Yamamoto E; Noguchi A; Mizushima Y. Sustained release of basic fibroblast growth factor and angiogenesis in a novel covalently crosslinked gel of heparin and alginate // J Biomed Mater Res, 2001 Aug, Vol. 56(2). Pp. 216–21.
366. Taube C.H., Hohler H., Lerenz S., Forster W. The role of TXA-2 in hypertension // Biomedica Biochimica Acta. 1984. № 8/9. P. 208–211.
367. ten Hacken NH; Timens W; van der Mark TW; Nijkamp FP; Postma DS; Folkerts G. Stikstofmonoxide en astma // Ned Tijdschr Geneeskd, 1999 Jul 31, Vol. 143 (31). Pp. 1606–11.
368. Тернер-Уорвик М. Иммунология легких. Перевод с анг. – М. : Медицина, 1982. 336 с.
369. Thiemermann C., Schror K. Comparison of Thromboxane Synthetase Inhibitor Dazoxib and the Prostacyclin Mimetic Iloprost in an Animal Model of acute Ischaemia and Reperfusion // Biomedica Biochimica Acta. 1984. № 8/9. P. 151–154.
370. Thivierge M; Doty M; Johnson J; Stankovб J; Rola-Pleszczynski M. IL-5 up-regulates cysteinyl leukotriene 1 receptor expression in HL-60 cells differentiated into eosinophils // J Immunol, 2000 Nov 1, Vol. 165(9). Pp. 5221–6.
371. Ti LK, Cheong KF, Chen FG. Prediction of excessive bleeding after coronary artery bypass graft surgery: The influence of timing and heparinase on thromboelastography // J. Cardiothorac Vasc Anesth. 2002 Oct; 16(5): 545–50.
372. Tirosh O; Guo Q; Sen CK; Packer L. Mitochondrial control of inducible nitric oxide production in stimulated RAW 264.7 macrophages // Antioxid Redox Signal, 2001 Aug, Vol. 3(4). Pp. 711–9.
373. Tourkina E; Hoffman S; Fenton JW 2nd; Lipsitz S; Silver

- RM; Ludwicka-Bradley A . Depletion of protein kinase C epsilon in normal and scleroderma lung fibroblasts has opposite effects on tenascin expression.// *Arthritis Rheum*, 2001 Jun, Vol. 44(6). Pp. 137081.
374. Tran ND; Correale J; Schreiber SS; Fisher M. Transforming growth factor-beta mediates astrocyte-specific regulation of brain endothelial anticoagulant factors.// *Stroke*, 1999 Aug, Vol. 30(8). Pp. 1671–8.
375. Tsopanoglou NE; Maragoudakis ME. On the mechanism of thrombin-induced angiogenesis. Potentiation of vascular endothelial growth factor activity on endothelial cells by up-regulation of its receptors.// *J Biol Chem*, 1999 Aug 20, Vol. 274(34). Pp. 23969–76.
376. Tzima E; Trotter PJ; Orchard MA; Walker JH. Annexin V relocates to the platelet cytoskeleton upon activation and binds to a specific isoform of actin.// *Eur J Biochem*, 2000 Aug, Vol. 267(15). Pp. 472030.
377. Uchiba M; Okajima K. [Endothelial cells and coagulation abnormalities] // *Rinsho Byori*, 2000 Apr, Vol. 48(4). Pp. 308–13.
378. Vapaatalo H., Lanstiola K., Seppala E., Raugermas R., Kaste M., Hillbom M., Kangasaho M. Exercis, ethanol and arachidonic acid metabolism in healthy men // *Biomedica Biochimica Acta*. 1984. № 8/9. P. 413–420.
379. Votova Z. Are the leukotrienes involved in the bronchial asthma // *Biomedica Biochimica Acta*. 1984. № 8/9. P. 434–437.
380. Watanabe K; Takahashi H; Habu Y; Kamiya Kubushiro N; Kamiya S; Nakamura H; Yajima H; Ishii T; Katayama T; Miyazaki K; Fukai F. Interaction with heparin and matrix metalloproteinase 2 cleavage expose a cryptic anti-adhesive site of fibronectin.// *Biochemistry*, 2000 Jun 20, Vol. 39(24). Pp. 7138–44.
381. Weltermann A; Wolzt M; Petersmann K; Czerni C; Graselli U; Lechner K; Kyrle PA. Large amounts of vascular endothelial growth factor at the site of hemostatic plug formation in vivo.// *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999 Jul, Vol. 19(7). Pp. 1757–60.
382. Wessler S., Thyre E. On the Antithrombotic Action of Heparin // *Thrombos. Diathes. Haemorrh.* 1974. V. 32, № 1. P. 71–78.
383. Wills FL; Gilchrist M; Befus AD. Interferon-gamma regulates the interaction of RBL-2H3 cells with fibronectin through production of nitric oxide.// *Immunology*, 1999 Jul, Vol. 97(3). Pp. 481–9.
384. Wohn KD; Schmidt T; Kanse SM; Yutzy B; Germer M; Morgenstern E; Preissner KT. The role of plasminogen activator inhibitor-1 as inhibitor of platelet and megakaryoblastic cell adhesion.// *Br J Haematol*, 1999 Mar, Vol. 104(4). Pp. 901–8.
385. Woods M; Wood EG; Mitchell JA; Warner TD. Cyclic AMP regulates cytokine stimulation of endothelin-1 release in human vascular smooth muscle cells. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2000 Nov, Vol. 36(5 Suppl 1). Pp. 404–6.
386. Wu MH; Ustinova E; Granger HJ. Integrin binding to fibronectin and vitronectin maintains the barrier function of isolated porcine coronary venules.// *J Physiol*, 2001 May 1, Vol. 532(Pt 3). Pp. 78591.
387. Yamamoto T; Hartmann K; Eckes B; Krieg T. Role of stem cell factor and monocyte chemoattractant protein-1 in the interaction between fibroblasts and mast cells in

fibrosis.// J Dermatol Sci, 2001 Jun, Vol. 26(2). Pp. 10611.

389. Yamanaga K; Yuuki T; Tsukada M; Koshiba H; Nakajima T; Takechi K; Nakamura N. Heparin cofactor II inhibits thrombus formation in a rat thrombosis model.// Thromb Res, 2000 Apr 1, Vol. 98(1). Pp. 95–101.
390. Yin ZF; Huang ZF; Cui J; Fiehler R; Lasky N; Ginsburg D; Broze GJ Jr. Prothrombotic phenotype of protein Z deficiency.// Proc Natl Acad Sci U S A, 2000 Jun 6, Vol. 97(12). Pp. 6734–8.
391. Ylitalo P., Kaukinen S., Seppala E., Nurmi A.K., Pessi T., Krais Th., Vapastalo H. Pharmacological effects of iloprost (ZK 36 374) a stable prostacyclin analogue, in man // Biomedica Biochemica Acta. 1984, № 8/9. P. 399–402.

Содержание

ЧАСТЬ 1. СОСТОЯНИЕ РЕГИОНАРНОГО ГЕМОСТАЗА У ПРАКТИЧЕСКИ ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ	3
ГЛАВА 1. Введение. Материалы и методы исследований. Обзор литературы	3
ГЛАВА 2. Состояние регионарной кинетики свертывания крови	16
ГЛАВА 3. Состояние активности противосвертывающей и фибринолитической систем в различных сосудистых регионах	31
ГЛАВА 4. Роль сердца и легких в процессах трансрегионарного гемостазиологического обмена у практически здоровых людей	40
ГЛАВА 5. Состояние трансрегионарного взаимодействия систем гемостаза, у практически здоровых людей	50
ГЛАВА 6. Роль витамина «К» в механизмах саморегуляции системы гемостаза в физиологических условиях	63
ГЛАВА 7. Трансрегиональная взаиморегуляция системы гемостаза организма здорового человека	70
ГЛАВА 8. Роль факторов гемостаза в гуморальных реакциях организма здорового человека	77
ЧАСТЬ 2. ПРИОРИТЕТНЫЕ СПОСОБЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ГЕМОСТАЗА	100
ГЛАВА 1. Способ количественного определения фибрин-мономеров	100
ГЛАВА 2. Способ количественного определения растворимого фибрина	109
ГЛАВА 3. Способ определения активности тромбоксанов.	115
ГЛАВА 4. Новые диагностические возможности метода дифференцированной тромбоэластографии	121
ГЛАВА 5. Новые приемы анализа состояния гемостаза с использованием приоритетных методов расшифровки электрокоагулограмм	125
ЛИТЕРАТУРА	137
ИЛЛЮСТРАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ	

Воробьев В.Б.

Физиология гемостаза

Тех. редактор
Корректор

Т. Рашина
М. Тумина

Подписано в печать 22.09.03
Формат 84x108 1/32.
Гарнитура Таймс.
Уч. изд. лист 10,08. Заказ
Тираж .