

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

«Рязанский государственный медицинский университет имени
академика И.П. Павлова»

Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Климентова Эмма Анатольевна

Влияние активности факторов внутреннего пути свертывания и
гемостатических маркеров эндотелиальной дисфункции на тромботические
осложнения у пациентов с атеросклерозом периферических артерий

14.01.26 - Сердечно-сосудистая хирургия

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Калинин Роман Евгеньевич

Рязань - 2018

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	3
ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	11
1.1 Проблема тромботических осложнений при оперативных вмешательствах на артериях нижних конечностей.....	11
1.2 Современные представления о факторах внутреннего пути свертывания.....	14
1.3 Современные представления об эндотелии и его гемостатических маркерах.....	28
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	42
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.....	51
3.1 Оценка факторов внутреннего каскада коагуляции и гемостатических маркеров дисфункции эндотелия у пациентов группы С.....	51
3.2 Оценка факторов внутреннего каскада коагуляции и гемостатических маркеров дисфункции эндотелия у пациентов группы В.....	56
3.3 Оценка факторов внутреннего каскада коагуляции и гемостатических маркеров дисфункции эндотелия у пациентов группы А.....	65
3.4 Сравнительный анализ показателей внутреннего каскада коагуляции и гемостатических маркеров дисфункции эндотелия у пациентов исследуемых групп.....	74
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	89
ВЫВОДЫ.....	93
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	94
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	95

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АТ III - антитромбин III

АЧТВ - активированное частичное тромбопластиновое время

ВМК - высокомолекулярный кининоген

ВТЭО - венозные тромбоэмболические осложнения

ГМК - гладкомышечные клетки

ИБС - ишемическая болезнь сердца

ИЛ-1 - интерлейкин 1

ИЛ-6 - интерлейкин 6

ИЛ-8 - интерлейкин 8

ИМ - инфаркт миокарда

ККС - калликреин - кининовая система

ЛПИ - лодыжечно-плечевой индекс

НМГ - низкомолекулярные гепарины

НФГ - нефрационированный гепарин

ОААНК - облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей

ПАИ -1 - ингибитор активатора плазминогена -1

ПрС - протеин С

ПТФЭ - политетрафторэтилен

РААС - ренин-ангиотензин-альдостероновая система

ТАП - тканевой активатор плазминогена

ТИА - транзиторная ишемическая атака

ТЛБАП - транслюминальная баллонная ангиопластика

ТМ - тромбомодулин

ТФ - тканевой фактор

ТХ А2 - тромбоксан А2

УАП - урокиназный активаторы плазминогена

УЗДГ - ультразвуковая доплерография

УЗДС - ультразвуковое дуплексное ангиосканирование

ФВ - фактор Виллебранда

ФНО- α - фактор некроза опухоли

ЭД - эндотелиальная дисфункция

ЭРПС - эндотелиальный рецептор протеина С

IX фактор - фактор Кристмаса

NO - метаболиты оксида азота (II)

ТАFI - тромбин-активируемый ингибитор фибринолиза

TFPI -ингибитор пути тканевого фактора

VIII фактор - антигемофильный глобулин А

XI фактор - фактор Розенталя

XII фактора - фактор Хагемана

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Атеросклероз является основной причиной сердечно - сосудистых заболеваний во всем мире [30]. По данным разных источников заболеваемость облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей (ОААНК) составляет 2-10% от общей численности населения, достигая 15-20% у лиц старше 70 лет [54, 96].

Наибольшего эффекта у пациентов с ОААНК позволяет достигнуть хирургическое лечение, которое обеспечивает реваскуляризирующий эффект, но не устраняет основную причину заболевания [5]. Результаты реваскуляризирующих сосудистых операций впечатляют, однако проблема послеоперационных осложнений продолжает оставаться актуальной. В течение 5 лет до 40 % протезов перестают функционировать. Одними из наиболее распространенных осложнений являются тромбозы [1, 9, 34, 50]. По данным разных авторов послеоперационный тромбоз развивается в 60-90% случаев, особенно при проведении дистальных реконструкций [4]. В послеоперационном периоде причинами тромбоза являются технические погрешности, недооценка состояния путей притока и оттока, рестеноз зоны реконструкции вследствие гиперплазии неоинтимы, прогрессирование заболевания, общие гемодинамические нарушения и нарушения свертывающей системы крови [58].

Сегодня на первый план выходит изучение взаимосвязи между активностью основных факторов системы гемостаза и тромботических осложнений [27]. Влияние сосудисто – тромбоцитарного звена гемостаза на процессы тромбообразования у пациентов с ОААНК широко освещены и исследованы, что способствовало внедрению разнообразных антитромботических препаратов в ангиологию и сосудистую хирургию [70]. Связь внутреннего пути каскада коагуляции с позиций тромботических осложнений у пациентов с указанной патологией изучена недостаточно, результаты проведенных исследований противоречивы. Факторы внешнего

пути каскада коагуляции обеспечивают начальное формирование тромба, а факторы внутреннего пути способствуют его стабилизации [91]. К основным факторам внутреннего пути свертывания относятся VIII, IX, XI [84].

Исследования показали, что повышенная концентрация протеаз внутреннего пути свертывания крови, особенно факторов VIII, IX и XI ассоциируется с развитием венозных тромбоэмболических осложнений, об их связи с артериальным тромбозом складывается неопределенное мнение [74, 90]. Хотя известно, что при контакте биоматериала протеза с кровью, возрастает концентрация факторов внутреннего пути свертывания крови. Имеются убедительные данные, свидетельствующие о том, что внутренний путь свертывания играет важнейшую роль в иммунитете и процессах воспаления [101, 151].

Не менее важную роль в развитии тромбоза играют гемостатические маркеры дисфункции эндотелия. Многочисленные исследования, проведенные в последние десятилетия были посвящены изучению дисфункции эндотелия с позиций выработки метаболитов оксида азота (II) (NO), про- и противовоспалительных медиаторов, оценке активности тромбоцитов, в то время как роль гемостатических маркеров дисфункции эндотелия, а также их взаимосвязь с факторами внутреннего каскада коагуляции остается до конца неизученной у больных с атеросклерозом [6, 29, 31]. Все факторы, секретируемые эндотелием и участвующие в гемостазе и тромбозе, можно разделить на две группы – протромбогенные и атромбогенные. В норме атромбогенные факторы сосудистой стенки ингибируют тромбиногенез, инактивируют прокоагулянты, активируют фибринолиз, тормозят адгезию и агрегацию тромбоцитов, но не препятствуют гемостазу при повреждении сосудов, таким образом, ограничивают процесс тромбообразования. Во время оперативного вмешательства происходит неизбежное травмирование эндотелия, приводящее к его дисфункции. К основным маркерам дисфункции эндотелия, непосредственным образом, участвующим в гемостазе, относятся

NO, тканевой активатор плазминогена (ТАП), фактор Виллебранда (ФВ), ингибитор активатора плазминогена – 1 (ПАИ-1) [24, 33, 35, 37].

Некоторые работы были посвящены изучению факторов внутреннего пути коагуляции и гемостатических маркеров эндотелиальной дисфункции на фоне артериальной патологии в целом. Определенные полиморфизмы генов, ответственных за синтез протеаз внутреннего пути свертывания, ассоциированы с развитием атеротромботических осложнений, таких как ишемическая болезнь сердца (ИБС), ишемический инсульт, инфаркт миокарда (ИМ) [92, 106, 108]. Изменения гемостатических маркеров дисфункции эндотелия в послеоперационном периоде – повышение ФВ, ПАИ-1 при дефиците ПрС – могут играть роль в развитии тромботических осложнений и определять проходимость сосудистых реконструкций [78, 82, 102, 115].

Полученные данные об участии факторов внутреннего пути свертывания и маркеров дисфункции эндотелия в патогенезе атеротромбоза помогут выявить новые предикторы тромботических осложнений у пациентов с ОААНК и дать представление о возможном применении альтернативных вариантов антитромботической терапии, в том числе новых антикоагулянтов, например, ингибиторов IX и XI факторов.

Цель исследования

Улучшение тактики ведения пациентов с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей путем определения активности факторов внутреннего каскада коагуляции и гемостатических маркеров эндотелиальной дисфункции.

Задачи исследования

1. Оценка уровня факторов внутреннего каскада коагуляции и гемостатических маркеров дисфункции эндотелия у больных с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей.

2. Выявление корреляционной связи между уровнем факторов внутреннего каскада коагуляции и гемостатических маркеров дисфункции

эндотелия у больных с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей до и после оперативных вмешательств, либо на фоне консервативного лечения.

3. Определение влияния исследуемых показателей на прогрессирование атеросклеротического процесса и развитие осложнений, таких как рестеноз и тромбоз зоны реконструкции.

Научная новизна

Впервые у пациентов с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей до и через 3 месяца после проведения оперативного вмешательства были определены специфические гемостатические маркеры, такие как фактор Виллебранда, активность VIII, IX, XI факторов внутреннего пути свертывания и естественный антикоагулянт – протеин С. Причем проведено сопоставления результатов лабораторных и клинических исследований с позиции развития рестеноза зоны реконструкции, прогрессирования атеросклеротического поражения, тромботических осложнений включающих тромбозы артерий конечностей, инфаркт миокарда.

Научно-практическая значимость работы

1. Результаты проведенного исследования позволяют выявить новые маркеры в прогнозировании развития рестеноза зоны реконструкции, прогрессирования атеросклероза и тромботических осложнений путем анализа активности факторов внутреннего каскада коагуляции и гемостатических маркеров дисфункции эндотелия.

2. Показана перспективность оценки факторов внутреннего каскада коагуляции и маркеров функционального состояния эндотелия в разработке алгоритма ведения пациентов с атеросклерозом артерий нижних конечностей в периоперационном периоде.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Эндоваскулярные операции оказывают существенное воздействие на систему гемостаза, по выраженности не уступающее открытым

артериальным реконструкциям.

2. Прогнозирование развития рестеноза зоны реконструкции, прогрессирования атеросклеротического поражения и тромботических осложнений необходимо осуществлять путем анализа факторов внутреннего каскада коагуляции и гемостатических маркеров дисфункции эндотелия.

3. Оценка факторов внутреннего каскада и функционального состояния эндотелия должна быть использована в разработке алгоритма ведения пациентов с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей в периоперационном периоде.

Внедрение результатов исследования в практику и учебный процесс

Результаты исследования внедрены в лечебную работу отделения сосудистой хирургии ГБУ РО «Областной клинический кардиологический диспансер», отделения сосудистой хирургии ГБУ РО «Областной клинической больницы», в учебную работу кафедры сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной, оперативной хирургии и топографической анатомии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

Апробация работ

Основные результаты доложены и обсуждены на XXIII Всероссийском съезде сердечно - сосудистых хирургов (Москва, 2017), XXXIII Международной конференции Российского Общества ангиологов и сосудистых хирургов (Сочи, 2017), VI Ежегодной ассамблее Евро-Азиатской Ассоциации ангиологов и сосудистых хирургов «Настоящее и будущее сосудистой хирургии и ангиологии» (Москва, 2018), 10-ой Международной научно-практической конференции «Дисфункция эндотелия: экспериментальные и клинические исследования» (ВГМУ, 2018), XXXIV Международной конференции «Перспективы развития сосудистой хирургии в стране и ее регионах» (Ярославль, 2018), IX Всероссийской конференции по клинической гемостазиологии и гемореологии (Санкт-Петербург, 2018).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 13 научных работ, в том числе 4 в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для публикации научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 118 страницах печатного текста и состоит из: введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов и их обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Диссертация иллюстрирована 29 рисунками и диаграммами, 12 таблицами. Список литературы содержит 68 отечественных и 137 зарубежных публикаций.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Проблема тромботических осложнений при оперативных вмешательствах на магистральных артериях нижних конечностей

Атеросклероз является основной причиной сердечно - сосудистых заболеваний во всем мире [7]. Наиболее часто атеросклероз проявляется в виде ИБС, ишемического инсульта и ОААНК, приводящих к инвалидизации или летальному исходу вследствие осложнений [14, 41, 54, 96, 97]. В одном из последних крупных метаанализов, включавшем данные 35 публикаций, было выявлено преобладание (91%) ПБ стадии заболевания по классификации А.В. Покровского - Фонтейна. У 21% из этих больных затем диагностировалась критическая ишемия нижних конечностей (КИНК), а у 4-27% в дальнейшем была произведена ампутация. У 7% пациентов с асимптомным течением атеросклероза периферических артерий за время исследований наблюдалось прогрессирование заболевания до стадии ПБ стадии заболевания [177]. Причинами выявления ОААНК на поздних стадиях могут служить низкая обращаемость пациентов с болями в ногах, длительное бессимптомное течение заболевания, невнимательность при оценке врачом факторов риска при жалобах пациентов на утомляемость при ходьбе [28, 64].

Наибольшего эффекта у пациентов с ОААНК позволяет достичь хирургическое лечение, которое обеспечивает реваскуляризирующий эффект, но не устраняет основную причину заболевания. На сегодняшний день применяются открытые хирургические методы лечения, и широкое распространение получают эндоваскулярные методы лечения, особенно у пациентов с тяжелыми сопутствующими заболеваниями, отличающиеся малой травматичностью и достаточно высокой эффективностью [3]. Результаты реваскуляризирующих сосудистых операций впечатляют, однако проблема послеоперационных осложнений продолжает оставаться актуальной [39, 61]. Одними из наиболее распространенных осложнений

являются тромбозы, которые составляют, по данным различных авторов, от 60-90% от всех поздних осложнений [1, 9, 34, 50].

По разным данным при аорто-бедренном шунтировании средняя проходимость в течение года составляет 95%, в течение пяти лет – 87% [49]. При наложении анастомоза выше щели коленного сустава проходимость в течение трех лет для политетрафторэтиленового (ПТФЭ) протеза – 63.7%, при аутовенозном шунтировании – 77.5%. Пятилетняя проходимость составляет 44.4% и 68.9%, соответственно [22, 182]. Проходимость анастомоза ниже щели коленного сустава в течение трех лет для ПТФЭ протеза – 37%, в течение пяти лет – 23% [52]. Аутовенозное шунтирование ниже щели коленного сустава отличается более высокими показателями, пятилетняя проходимость по методике «in situ» и с использованием реверсированной большой подкожной вены составляет 58.49% и 54.17% [25]. Проходимость после эндоваскулярных вмешательств на поверхностной бедренной артерии в течение трех лет – 52.9%, в течение пяти лет – 43.7% и 66% для стентов с лекарственным покрытием [22, 69, 80].

Частота тромботических осложнений после аорто-бедренных реконструкций колеблется от 42 до 59% и возрастает с увеличением длительности наблюдения за пациентами [4]. При выполнении бедренно-подколенного шунтирования ниже щели коленного сустава частота данных осложнений варьирует в пределах 8.5-37.0% и достоверно зависит от методики шунтирования. Преимуществом обладает шунтирование по методике «in situ», наличие тромбозов отмечено в 8.5% случаев, с применением реверсированной вены – 15.4%, синтетического протеза – 37.0% [10].

В послеоперационном периоде причинами тромбоза являются погрешности в хирургической технике, недооценка состояния путей притока и оттока, рестеноз зоны реконструкции вследствие гиперплазии неоинтимы, прогрессирование заболевания, общие гемодинамические нарушения и нарушения свертывающей системы крови [58, 70].

Сегодня на первый план выходит изучение взаимосвязи между активностью основных факторов системы гемостаза и тромботических осложнений [27]. При нарушении первичного гемостаза (эндотелиальная дисфункция (ЭД), повышенная агрегационная способность тромбоцитов) и метаболических нарушениях (сахарный диабет, гомоцистеинемия, васкулиты) тромбы чаще образуются в артериях. При высоком давлении и большой скорости кровотока в артериальном русле тромбы преимущественно состоят из тромбоцитов, которые прочно связаны с стенкой сосуда и способны обтурировать полностью или частично просвет сосуда. Основное значение для образования такого тромба имеет активация тромбоцитов в месте повреждения эндотелия, например, разрыв атеросклеротической бляшки. В венах при низком давлении и медленном токе крови ведущее значение для тромбообразования имеет активация плазменных факторов свертывания крови. Венозные тромбы содержат много фибрина и эритроцитов, но мало тромбоцитов [44]. Влияние сосудисто – тромбоцитарного звена гемостаза на процессы тромбообразования широко изучены, что способствовало внедрению разнообразных антитромботических препаратов [104]. Многочисленные исследования по оценке действия антитромбоцитарных препаратов доказали их клиническую эффективность и вывели их в первый ряд лекарственных средств, используемых для терапии и профилактики тромботических осложнений [55]. Воздействие факторов внутреннего каскада на тромботические осложнения у пациентов с ОААНК изучены недостаточно, полученные результаты противоречивы [91]. Факторы коагуляционного звена гемостаза являются привлекательными мишенями для действия антикоагулянтных препаратов. Так, механизм действия нефрационированного гепарина (НФГ) основан на связывании с антитромбином III (АТ III), который является физиологическим ингибитором XIIa, XIa, IXa, Xa, IIa факторов. Отличие низкомолекулярных гепаринов (НМГ) от действия НФГ заключается в том, что эти препараты обладают большей степенью активности в отношении Xa фактора.

Антикоагулянты непрямого действия (например, варфарин) подавляют витамин К-зависимый синтез биологически активных форм кальций-зависимых факторов свёртывания крови II, VII, IX и X. Новые оральные антикоагулянты (например, Ривароксабан и Апиксабан) действуют через дезактивацию Ха фактора, прерывая тем самым внешний и внутренний путь свертывания, ингибируя образования тромбина. Дабигатрана этексилат селективно напрямую ингибирует тромбин [26, 57]. Антикоагулянтные препараты находят свое применение при реконструктивно-восстановительных вмешательствах преимущественно во время операции и в раннем послеоперационном периоде.

Изучение факторов внутреннего пути коагуляции является перспективным направлением в связи с возможной разработкой новых препаратов, ингибирующих их активность.

1.2 Современные представления о факторах внутреннего пути свертывания

Внутренний путь обычно представляет собой последовательность протеолитических реакций, которые берут свое начало с активации XII фактора на заряженной поверхности. Отрицательно заряженная поверхность коллагена субэндотелия и поверхность активированных тромбоцитов являются высокоаффинными для XII фактора и высокомолекулярного кининогена (ВМК), находящегося в комплексе с прекалликреином и XI фактором. Этот комплекс называется контактной системой [91]. Спонтанно активированный XII фактор путем конформационных изменений в α -XIIa, который стимулирует образование фермента калликреина в результате реакции ограниченного протеолиза. Последний по принципу положительной обратной связи усиливает активацию XII фактора, превращая его в сериновую протеиназу β -XIIa. β -XIIa активирует XI фактор. Активаторами XI фактора могут быть также тромбин, плазмин и XIa фактор. Многие авторы полагают, что активация XI фактора является центральным местом в стимулировании внутреннего механизма свертывания крови. XIa фактор

превращает IX фактор в IXa в присутствии ионов кальция. При этом гидролизуются те же пептидные связи, которые гидролизуются комплексом VIIa-тканевой фактор (ТФ). Тем самым усиливается генерация тромбина, активирующего V и VIII факторы. Продолжается внутренний путь активацией X фактора, в осуществлении которой важную роль играют фосфолипиды мембраны тромбоцитов и ионы кальция. После образования Xa/Va фактора внешний и внутренний пути сходятся, формируется протромбиназный комплекс. Активация X фактора через внутренний путь в 50 раз эффективнее, чем через внешний путь. Xa фактор превращает протромбин в тромбин в присутствии кофактора Va, в последующем тромбин преобразует фибриноген в фибрин [3, 159] рис. 1.



Рис. 1 Каскадный механизм свертывания крови

До настоящего времени для понимания механизмов гемостаза использовали именно данную «каскадную» модель процесса свертывания крови. Она была предложена в 1964г., двумя независимыми группами учёных (Davie E.W., Ratnoff O.D., Macfarlane R.G.), где процесс свертывания крови подразделяется на первичный, или сосудисто-тромбоцитарный, гемостаз и

вторичный, или коагуляционный, гемостаз, с выделением в последнем «внешнего», «внутреннего» путей активации тромбина и «общего пути». Своего рода третьим этапом свертывания крови является процесс лизиса кровяного сгустка – фибринолиз. Эта модель сохраняет свое значение только как отражение процессов свертывания крови «in vitro».

«Каскадная» модель свертывания крови, объясняющая этапность процесса свертывания крови «in vitro», не объясняет остановку кровотечения «in vivo». Прежде всего, она не отвечает на вопрос, почему возможность образования протромбиназного комплекса по одному пути не компенсирует поломку в другом. Например, у пациентов с дефицитом XII фактора, ВМК или прекалликреина имеет место удлинение активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), но без тенденции к кровотечению. Несмотря на этот факт, факторы внутреннего пути играют важную роль в гемостазе, поскольку пациенты с дефицитом факторов VIII или IX имеют серьезную тенденцию к кровотечению, хотя внешний путь при этом не поврежден. Подобно, пациенты с дефицитом VII фактора имеют серьезную склонность к кровотечению, хотя внутренний путь не поврежден. Таким образом, внутренний и внешний пути не могут работать как самостоятельные пути.

В последнее время получены убедительные данные о том, что в организме человека оба пути тесно связаны между собой и с тромбоцитами. На основе этих знаний была разработана «клеточная» модель свертывания крови, призванная описать процессы гемокоагуляции «in vivo» и предложенная Н.Нoffman в 2001 г.

Современная модель вторичного гемостаза включает три фазы:

I фаза. Инициация: в первую фазу на поверхности клеток, содержащих ТФ, происходит активация VII фактора (в физиологических условиях ТФ содержат фибробласты, гладкомышечные клетки сосудов; при воспалении ТФ-несущими клетками становятся эндотелиальные клетки, моноциты). При повреждении сосудистой стенки данные клетки начинают контактировать с

плазмой. Одновременно обнажаются субэндотелиальные структуры, что приводит к адгезии в этой области тромбоцитов. ТФ связывается с VII фактором с образованием комплекса ТФ/VIIa. Этот комплекс локально на поверхности ТФ – несущих клеток активирует X и IX факторы. Фактор IXa мигрирует и связывается с поверхностью тромбоцитов, в то время как фактор Xa остаётся на поверхности клеток, несущих ТФ. Xa фактор активирует V фактор. В результате, образовавшийся на поверхности ТФ-несущих клеток комплекс Xa/Va расщепляет протромбин с образованием небольшого количества тромбина – ключевого фактора последующего усиления активации системы свёртывания.

II фаза. Амплификация: реакции фазы усиления происходят на поверхности тромбоцитов. Пространственное разделение процессов коагуляции (фаза инициации – на поверхности ТФ-несущих клеток, фаза амплификации – на поверхности тромбоцитов) – один из механизмов ограничения их выраженности при отсутствии необходимости в свёртывании крови. Небольшое количество тромбина, образовавшегося в фазу инициации, активирует тромбоциты, V, VIII и XI факторы. Тромбин способствует высвобождению VIII фактора из комплекса с ФВ, в результате образуется VIIIa фактор. Активированный XIa фактор приобретает способность связываться с поверхностью тромбоцитов. Таким образом, вышедший из фазы инициации тромбин выступает в качестве мощного усилителя коагуляции.

III фаза. Прогнация. В фазу распространения на поверхности активированных тромбоцитов формируются теназный (VIIIa/IXa) и протромбиназный (Va/Xa) комплексы. VIII фактор активируется в фазу амплификации и фиксируется на тромбоцитах. IXa фактор переносится на поверхность тромбоцитов с места активации ещё в фазу инициации; дополнительное его количество образуется на тромбоцитах под действием образованного в фазу усиления XIa фактора. Теназный комплекс на поверхности тромбоцитов активирует X фактор, связанный со своим

кофактором Va. Образовавшийся протромбиназный комплекс обеспечивает лавинообразное нарастание уровня тромбина. Тромбин переводит фибриноген в фибрин, а также активирует XIII фактор, обеспечивающий стабилизацию фибриновых нитей и образование множества ковалентных перекрёстных связей между ними.

Таким образом, внутренний путь исходя, из клеточной теории состоит из XIa фактора, IXa/VIIIa комплекса. Оба пути свертывания крови необходимы для гемостаза, потому что они работают на разных поверхностях и играют разные роли [116].

Доказано повышение активности VIII, XI и IX факторов внутреннего каскада коагуляции у пациентов с венозными тромбозами (ВТЭО), об их связи с артериальным тромбозом складывается неопределенное мнение [90, 112]. Хотя известно, что при контакте биоматериала с кровью, возрастает концентрация факторов внутреннего пути свертывания крови [176]. Например, поверхность стента по определению является тромбогенным субстратом, так как все современные имплантаты изготовлены из металла [5].

Существует три основные естественные антикоагулянтные системы – АТ III, ПрС и ингибитор внешнего пути (TFPI). АТ III является основным ингибитором тромбина Ха, IXa, XIa, XII а факторов. TFPI является основным ингибитором комплекса ТФ-VIIIa. Основная функция этих ингибиторов – предотвращение свертывания крови в физиологических условиях и замедление активации свертывания крови после повреждения сосудов (рис. 2). Появляется все больше доказательств, что естественные ингибиторы коагуляции помимо антикоагулянтных функций также обладают противовоспалительным действием.

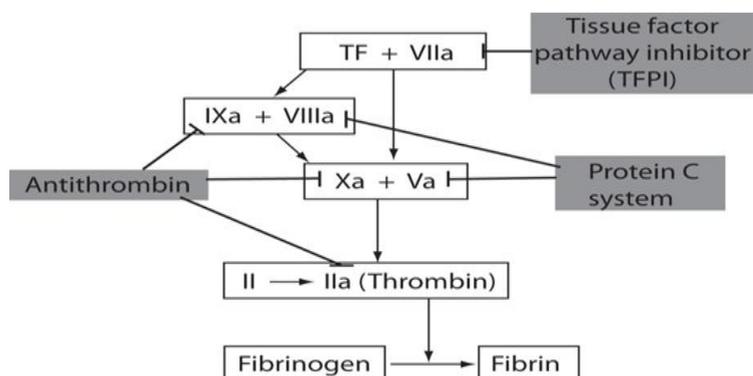


Рис. 2 Основные физиологические антикоагулянты (Айсина R.B., 2014)

Сформировавшиеся тромбы растворяются при помощи фибринолитической системы. Урокиназа, XII фактор, ТАП переводят пламиноген в плазмин. Под действием плазмина фибрин постепенно гидролизует, а его конечные продукты препятствуют формированию новых фибриновых сгустков. Подавляют активность фибринолитической системы ингибитор активатора пламиногена, ингибитор плазмина (антиплазмин) [71, 136].

О вкладе XII фактора (фактор контактной активации, фактор Хагемана) в развитие артериальных тромбозов получены противоречивые данные. Концентрация XII фактора в плазме крови регулируется генетически, а также может отражать функциональное состояние эндотелия [86]. Хотя XII фактор входит в состав контактной системы, его участие в системе гемостаза не является значимым, так как у людей с дефицитом XII фактора не развиваются геморрагические осложнения [110, 185]. Многие годы более рассматривались не протромботические, а антитромботические свойства XII фактора в связи с его участием в процессе активации фибринолиза, были описаны случаи развития артериального тромбозов, а также ИМ у пациентов с его дефицитом [94, 139, 205]. Дальнейшие исследования показали, что развитие тромботических осложнений обусловлено не столько дефицитом, сколько присутствием других факторов риска тромбоза – беременности, послеродового периода, оперативного вмешательства, травмы, наличия внутривенного катетера, дефицита АТ III,

болезни Бюргера и других [106]. Учеными из Швейцарии и Дании не было обнаружено корреляции между дефицитом XII фактора и развитием тромботических осложнений [203]. Британское исследование полиморфизма гена, кодирующего синтез XII фактора, показало протективный эффект низкого уровня последнего в отношении развития ИБС [204]. В испанском исследовании при исследовании того же гена, напротив, низкий уровень XII фактора способствовал развитию ишемического инсульта [172]. Вероятно, риск развития сердечно-сосудистых заболеваний в данном случае определяется не уровнем XII фактора, а его сочетанием с другими факторами риска. Так в исследовании Miller G.J. и др. у пациентов с ИБС отмечался не только повышенный уровень XII фактора, но и холестерина, триглицеридов и фибриногена [153]. Интересно, что измерение активности XII фактора после ИМ, может позволить предсказать его рецидив [111]. Уровень XII фактора не влияет на тяжесть и стадию заболеваний периферических артерий [199]. В связи с возникшими противоречиями исследования активности XII фактора были дополнены животными моделями. При моделировании тромбоза средней мозговой артерии у дефицитных по XII фактору мышей в ее просвет на 1 час помещали нить, добиваясь уменьшения регионального кровотока на 90%. Степень повреждения головного мозга была на 50% меньше по сравнению с группой контроля, что свидетельствует о сниженном тромбообразовании у опытной группы мышей. Время свертывания крови было сопоставимо в обеих группах. Дальнейшее введение человеческого XII фактора опытной группе нормализовало АЧТВ и восстанавливало восприимчивость к ишемии [128]. Изучение XII фактора позволит преодолеть возникшие противоречия относительно риска тромботических осложнений, так как отсутствие геморрагических осложнений при дефиците XII фактора делает его привлекательной целью для создания нового антитромботического препарата.

XI фактор (предшественник плазменного тромбопластина, фактор Розенталя) кроме участия в каскаде внутреннего пути свертывания косвенно

участвует в ингибировании процессов фибринолиза. Образовавшийся тромбин, во-первых, сам приводит к активации XI фактора, замыкая своеобразный цикл своей генерации, во-вторых, активирует тромбин-активируемый ингибитор фибринолиза (ТАFI), который реализует свою функцию путем удаления с-концевых остатков лизина от фибрина для защиты последнего от плазмина. Этот механизм был продемонстрирован в эксперименте на кроликах. После моделирования тромбоза яремной вены и применения антител к XI фактору было отмечено двукратное усиление фибринолиза, а совместное ингибирование XI фактора и ТАFI не произвело значимого эффекта на сформированный тромб [154, 189, 193]. В другой модели у дефицитных по XI фактору мышей индуцировали артериальный тромбоз посредством инъекции хлорида железа (III) в различных концентрациях. В контрольной группе тромбоз возникал при концентрациях 3.5% и выше, у мышей опытной группы не было реакции на введение 5% раствора, а 7.5% раствор вызывал тромбоз только в половине случаев. Исследователи пришли к выводу, что протективный эффект дефицита XI фактора в отношении тромбообразования сопоставим с назначениями высоких доз гепарина и эффективнее аспирина, причем без значимого влияния на частоту геморрагических осложнений [194]. Интересен и тот факт, что дефицит ПрС, естественного антикоагулянта, приводил к внутриутробной гибели исследуемых мышей от коагулопатии, схожей с молниеносной пурпурой, тогда как при сочетании его с дефицитом XI фактора коагулопатии не развивалось и мыши выживали [85,121]. Артериальный тромбоз был рассмотрен на примере острого коронарного синдрома. Уровень XI фактора был повышен у 24% пациентов с острым ИМ и у 8% с нестабильной стенокардией, выявлена взаимосвязь с уровнем триглицеридов, холестерина и наличием ожирения [155]. По данным Zabczyk М. и др. XI фактор был повышен у 39% больных со стабильной стенокардией [201]. Loeffen R. и др. также отмечают увеличение активности XI фактора при ИМ с возвращением к значениям группы контроля через 6 месяцев.

Дальнейшее наблюдение не выявило корреляции между уровнем XI фактора и риском повторного ИМ [144]. Тем не менее, нельзя утверждать о протективном эффекте дефицита XI фактора в отношении ИМ, но не в отношении ишемического инсульта, что было подтверждено израильскими учеными. Это объясняется особенностями церебрального сосудистого русла, структурой эндотелия и его взаимодействия с другими клетками и компонентами крови. В мембране этих эндотелиоцитов находится особый белок AβPP, обладающий фибринолитической активностью [170, 197]. Противоположные результаты показали Girolami A. и др. У пациентов с дефицитом XI фактора был повышен риск артериального тромбоза [105]. Предложены несколько видов ингибиторов XI фактора, потенциально способных в будущем стать новыми эффективными антикоагулянтами. Разработан препарат, представляющий собой олигонуклеотид, снижающий активность XI фактора. При профилактике ВТЭО у пациентов после эндопротезирования коленного сустава отмечена его высокая эффективность по сравнению со стандартной профилактической дозой эноксапарина без увеличения риска геморрагических осложнений. Сульфатированный пентагаллилгликозид другой высокоселективный аллостерический ингибитор XI фактора, отличающийся простотой производства. XI фактор имеет 2 участка с которыми в норме связывается гепарин – домен A3 тяжелой цепи и каталитический домен, с которым и связывается новый препарат [103, 119, 180].

IX фактор (антигемофильный глобулин В, фактор Кристмаса) - витамин-К зависимая протеаза, играющая ведущую роль во внутреннем пути коагуляции. Врожденный дефицит IX фактора известен под названием гемофилия В [114]. IXа фактор может быть продуктом не только внутреннего каскада коагуляции, активируясь XIа фактором, но внешнего – с помощью тканевого и VIIа факторов в присутствии катионов кальция. В связи с этим его ингибирование способно значительно ослабить влияние внутреннего пути на процесс гемостаза [145]. Введение ингибитора IX фактора собакам с

предварительно окклюзированной на 50% огибающей коронарной артерией предотвращало ее тромбоз, а показатели свертывания крови не увеличивались [75]. В другом опыте на кроликах была проведена аортотомия с последующей аллопластикой заплатой из политетрафторэтилена. Исследовалась реакция системы гемостаза на введение гепарина и ингибитора IX фактора. Не было замечено тромботических осложнений в обеих группах, но при применении гепарина наблюдалась большая кровопотеря и увеличение времени первичного гемостаза. Также не было отличий в выраженности гиперплазии интимы у контрольной и опытной групп [184]. Голландскими учеными доказано, что при дефиците IX на 80% снижается смертность от ИБС и частота развития ИМ, а также развитие тромбоза в местах разрыва атеросклеротической бляшки [169]. В исследовании Heikal N.M. и др. у 21% пациента с транзиторной ишемической атакой (ТИА) / ишемическим инсультом и у 26% пациентов выявлена повышенная активность IX фактора. Каждое увеличение активности IX фактора на 1% увеличивает риск артериального тромбоза на 3%, венозного тромбоза на 5.8% [114]. Разработано несколько видов препаратов, снижающих активность IX фактора, - моноклональные антитела к IX фактору, синтетические конкурентные ингибиторы, оральные ингибиторы и РНК-аптамеры. Синтетические конкурентные ингибиторы блокируют активный центр IXа фактора и его способность связываться с тромбоцитами. Эти препараты еще не прошли клинические испытания. Моноклональные антитела представляют собой человеческие иммуноглобулины G, дополненные иммуноглобулинами мыши и направленные против Glk домена IX фактора. Они завершили первую фазу клинических испытаний, была определена их фармакокинетика и фармакодинамика. Отмечено дозозависимое влияние на время свертывания с максимальным эффектом после 50 минут внутривенной инфузии. Оценка безопасности их применения требует дополнительных исследований. РНК-аптамеры – короткие олигонуклеотиды, которые способны образовывать конформации,

позволяющие им нарушать активацию X фактора IXa фактором, активацию IX фактора VIIa фактором. Доклинические исследования показали высокую селективность РНК-аптамеров. Разработан эффективный антитод, блокирующий действие РНК-аптамеров в течение 5 минут после введения. Препарат прошел первую фазу клинических испытаний, выявлено дозозависимое влияние на АЧТВ. Оральные ингибиторы частично подавляют активность IX фактора и незначительно VII, X, XI и XIII факторов. В первой фазе клинических испытаний показана высокая безопасность данной группы ингибиторов [118, 168].

VIII фактор (антигемофильный глобулин А) – β 2-глобулин, состоящий из 6 субъединиц и 2 цепей. Недавно было обнаружено, что он вырабатывается не только в синусоидных эндотелиальных клетках печени, но и во внепеченочном эндотелии (эндотелиальные клетки почек, селезенки, легких) [100]. Выработка VIII фактора эндотелием зависит от скорости кровотока в сосудистом русле. Чем меньше скорость кровотока, тем больше фактора вырабатывается. 95% молекул VIII фактора циркулирует в крови в комплексе с ФВ, который защищает его от инактивации ПрС. Врожденный дефицит VIII фактора называется гемофилией А, приводящей к существенным геморрагическим осложнениям [202]. Активность VIII фактора зависит от этнической принадлежности, она преобладает у лиц негроидной расы в сравнении с европеоидной. Это вероятно связано с более высокой распространенностью среди европеоидной расы группы крови 0 по классификации АВ0. Доказано, люди с данной группой крови имеют на 25-30% меньшее количество антигена к ФВ и VIII фактора, в отличие от людей с иной группой крови [122]. В эксперименте на бабуинах был создан артериовенозный шунт для оценки тромботических осложнений. В опытной группе, которой вводился ингибитор VIII фактора, наблюдалось уменьшение числа тромбоцитов, причем препарат сохранял свою эффективность в течение недели. Данный препарат уменьшал активность VIII фактора максимум на 40%, что отразилось на количестве геморрагических осложнений, не

выявленных в данном исследовании [120]. У мышей с избытком аполипопротеина Е при сниженной активности VIII фактора при назначении диеты с повышенным содержанием холестерина в первые 8 недель было существенно замедлено формирование атеросклеротического процесса по сравнению с обычными мышами. Это объяснялось меньшим количеством фибриногена и макрофагов, а также отсутствием адгезии тромбоцитов. Через 16 недель дефицит VIII фактора лишился протективного эффекта из-за преобладания в патогенезе атеросклероза внешнего каскада коагуляции [127]. Окисленные липопротеины низкой плотности при атеросклерозе способны воздействовать на гладкомышечные клетки и макрофаги и повышать транслокацию фосфатидилсерина на их поверхность, увеличивая их способность связываться с VIII фактором. При иммуногистохимическом исследовании обнаружена высокая активность VIII фактора непосредственно вблизи макрофагов и гладкомышечных клеток в атероматозной бляшке, но не в нормальных тканях [73]. Małecki R. и др. показали, что повышенный уровень VIII фактора может быть причиной 5% всех случаев артериальных тромбозов [149]. Риск артериального тромбоза повышается при сочетании гипергомоцистеинемии и повышенной концентрации VIII фактора [141]. У 40% родственников пациентов с повышенным уровнем VIII фактора также отмечается его повышение, а риск ИМ и тромбоза периферических артерий повышен в 4-8 раз [74]. В исследовании Mulder R. и др. у пациентов с повышенным уровнем VIII фактора и низким свободным протеином S являются незначительными факторами риска артериального тромбоза [158].

В исследовании Val - Anetta и др. у 5 из 9 пациентов с ишемическим инсультом была повышена активность VIII фактора, сохраняющаяся у 4 из них в течение 8-10 месяцев, причем неврологический статус был тяжелее в первые 24 часа заболевания по сравнению с группой контроля [135]. Gouse B.M. и др. выявили четкую взаимосвязь между повышенным уровнем VIII фактора и рецидивом ишемического инсульта в период госпитализации [108].

Концентрация комплекса VIII фактор-ФВ коррелирует с риском обострения ИБС и развития ИМ. ФВ способствует адгезии тромбоцитов, а VIII фактор, формированию фибрина, определяя тромбоцитарный и фибриновый компоненты артериального тромбоза, соответственно [88]. В многоцентровом рандомизированном клиническом исследовании Progetto Lombardo Athero-Trombosi участвовало 953 пациента с повышенным уровнем VIII фактора, антигеном ФВ, фибриногена, лейкоцитов. Оценивался вклад этих показателей в развитие и прогрессирование ишемии в различных сосудистых бассейнах. У пациентов с ИМ наблюдался высокий уровень VIII фактора и фибриногена и низкий уровень ПрС. При стабильной стенокардии были повышено количество лейкоцитов и антигена ФВ. В группе пациентов, перенесших ТИА повышена концентрация VIII фактора и наличие лейкоцитоза. У больных с заболеваниями периферических артерий был повышен уровень VIII фактора, снижен фибриногена, АТ III, ПрС и VII фактора после монофакторного анализа. При мультифакторном анализе наблюдалась только отрицательная корреляция с уровнем фибриногена. Была выявлена связь между активностью VIII фактора и плече-лодыжечным градиентом систолического давления [87]. Kovar F.M. и др. показали, что у женщин в сравнении с мужчинами увеличение уровня VIII фактора повышает риск неблагоприятного исхода сердечно-сосудистых заболеваний [133].

В другом исследовании изучалось влияние гомоцистеина, фибриногена, VIII фактора, Лейденской мутации на развитие тромботических осложнений после чрескожной транслюминальной ангиопластики (ТЛБАП) периферических артерий. Значимым было признано влияние только совокупности этих факторов [174]. Этой же группой авторов в дальнейшем было показано увеличение концентрации вышеописанных показателей при ОААНК IIБ–IV стадии заболевания по классификации А.В. Покровского - Фонтейна. Повышенная активность двух и более факторов утяжеляют течение ОААНК и увеличивают риск КИНК [173].

Внутренний каскад коагуляции играет важную роль в иммунитете и процессах воспаления. Одним из основных медиаторов воспаления является брадикинин, образующийся контактной системой. Контактная система – это протеолитическая система, которая принимает участие в свертывании крови, фибринолизе, активации C1-комплемента, регуляции ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС), обеспечивая процессы адаптации и защиты организма. Брадикинин действует через два рецептора – В1 (индуцибельный) и В2 (конститутивный). Обеспечивает местное развитие воспаления за счет усиления секреции интерлейкина 1 (ИЛ-1) и интерлейкина 8 (ИЛ-8), фактора некроза опухоли (ФНО- α), а также простагландинов и лейкотриенов. Оказывает влияние на продукцию и секрецию NO, расширяющего просвет кровеносных сосудов, активирующего фибринолиз, ингибирующего миграцию гладкомышечных клеток и агрегацию тромбоцитов [36]. Брадикинин также снижает артериальное давление, повышает проницаемость капилляров, сокращает гладкую мускулатуру бронхов и других органов, стимулирует диапедез лейкоцитов и вызывает болевой эффект, обладает инсулиноподобным эффектом. Мыши с дефицитом рецептора В2 брадикинина защищены от искусственно вызванного артериального тромбоза, вероятно, этот эффект опосредуется РААС [68].

Патогенетические функции калликреин-кининовой системы (ККС) проявляются при недостаточности его ингибиторов – инактиватора C1-комплемента, α_2 -макроглобулина, АТ III (в комплексе с гепарином) и ингибитор ПрС [190, 195].

Сдвиг в сторону гиперкоагуляции при развитии тромботических осложнений поддерживает сопутствующий воспалительный процесс. К основным медиаторам воспаления относятся провоспалительные цитокины: ФНО- α , ИЛ-1 и интерлейкин 6 (ИЛ-6). Они неблагоприятно влияют на все звенья гемостаза: индуцируют ЭД клеток, повышают активацию тромбоцитов, ТФ и плазменного каскада свертывания крови, а также

нарушают функции физиологических антикоагулянтных путей и фибринолитическую активность [101].

1.3 Современные представления об эндотелии и его гемостатических маркерах

Большое значение в поддержании баланса между свертывающей и противосвертывающей системами крови имеет эндотелий и его метаболиты [31]. Все факторы, секретируемые эндотелием и участвующие в гемостазе и тромбозе, можно разделить на две группы – протромбогенные и атромбогенные. К антитромбогенным относятся циклический простациклин, ТАП, тромбомодулин (ТМ), NO, гепариноподобные структуры (гепарансульфат, дерматансульфат), к протромбогенным – ФВ, ПАИ-1, тромбоксан А₂ (ТХ А₂), факторы активации тромбоцитов, аденозиндифосфорная кислота. В норме атромбогенные факторы сосудистой стенки ингибируют тромбиногенез, инактивируют прокоагулянты, активируют фибринолиз, тормозят адгезию и агрегацию тромбоцитов, но не препятствуют гемостазу при повреждении сосудов, таким образом, ограничивают процесс тромбообразования [37].

Повреждение эндотелия может быть вызвано гемодинамическими сдвигами (турбулентные потоки, повышение артериального давления), вирусами, микроорганизмами, активированными протеазами и липазами, иммунными комплексами, повышением вазоактивных (кинины, гистамин, серотонин и др.) вазотоксичных веществ (гомоцистеин, липопротеиды низкой плотности), хронической гипоксией и гипоксемией. Во время оперативного вмешательства происходит неизбежная травматизация эндотелия, обнажение субэндотелиальных структур (коллагена, фибронектина, витронектина, тромбоспондина) и активация медиаторов воспаления, приводящие к ЭД [51]. При этом снижается секреция NO, простогландина I₂ при повышении выработки эндотелина 1, что приводит к спазму сосуда, адгезии и агрегации тромбоцитов. Повышается экспозиция ТФ на мембране, транслокация полярных фосфолипидов, синтез молекул адгезии сосудистых клеток, и

межклеточные молекулы адгезии клеток-1, Р и Е селектинов, интегринов. Эндотелиальные клетки начинают секретировать прокоагулянтные и антифибринолитические компоненты (ФВ, ТХ А2, ПАИ-1), значительно снижая секрецию антикоагулянтных и профибринолитических протеаз [72, 143]

В свою очередь артериальный тромбоз может индуцировать ЭД. Через час после тромбоза отмечается снижение уровня NO и способности к эндотелий-зависимой релаксации. Данный эффект сохраняется на протяжении 3 часов. Резкое увеличение активности NO в дальнейшем не влияет на эндотелий-зависимую релаксацию. Вероятно, данный процесс поддерживается не только уровнем NO, но и другими механизмами [125].

ФВ – мультимерный адгезионный гликопротеин, синтезирующийся в эндоплазматическом ретикулуме и модифицируется в аппарате Гольджи эндотелиоцитов, мегакариоцитов и в α -гранулах тромбоцитов [160]. В норме концентрация ФВ составляет 10 мкг/мл. В процессе гемостаза он выполняет три функции. Во-первых, способствует адгезии тромбоцитов через рецептор гликопротеин Ib-V-XI к обнажившемуся коллагену субэндотелия в местах высоких напряжений сдвига [8, 107]. Во-вторых, в плазме крови ФВ образует комплекс с VIII фактором, что стабилизирует последний и защищает от протеолиза ПрС. В-третьих, понижение концентрации ФВ приводит к усилению ангиогенеза. Выделяют два вида секреции ФВ: поддерживающую и быструю. В отличие от поддерживающей секреции, происходящей постоянно, быстрая секреция возникает только при воздействии определенных стимулов. Ими служат факторы гемостаза (тромбин, фибрин, плазмин) и воспаления (гистамин, лейкотриены, эндотоксины, ИЛ-1, -6, -8, супероксид-ион, ФНО) [198]. ФВ поддерживает воспалительный процесс: самостоятельно и через связанные тромбоциты способствует адгезии лейкоцитов к травмированной сосудистой стенке через рецепторы Р-селектин гликопротеин лиганд и β 2-интегрин [164]. При поступлении в

плазму крови ФВ расщепляется специфической металлопротеиназой ADAMTS-13.

NO отрицательно воздействует на секрецию ФВ. Классические эффекты NO опосредованы активацией растворимой гуанилатциклазы, генерацией циклического ГМФ (цГМФ), а также цГМФ-зависимой протеинкиназа-1. Ее активация приводит к ингибированию агонист-индуцированной мобилизации кальция и, следовательно, секреции ФВ [192].

Болезнь Виллебранда – наследственное заболевание, характеризующееся возникновением эпизодических спонтанных кровотечений. Причиной кровотечений служит вызванный дефицитом ФВ протеолиз VIII фактора. Существует три типа болезни Виллебранда. Первый тип заболевания характеризуется лишь количественным снижением ФВ при сохранении его мультимерной структуры, протекает в легкой форме и является наиболее распространенным (>80%). При втором типе болезни нарушается структура ФВ, встречается он реже первого (5-15%) и протекает в более тяжелой форме. Третий тип – самый редкий (<5%) и тяжелый, характеризуется дефицитом ФВ в плазме и клеточных структурах. Некоторые аутоиммунные и лимфопролиферативные заболевания могут проявляться в виде приобретенной формы болезни Виллебранда, при которой ФВ синтезируется, но быстро покидает сосудистое русло из-за образования специфических аутоантител или его повышенного протеолиза. Пациенты с болезнью Виллебранда часто являются хорошим объектом исследования влияния дефицита ФВ на различные патологические процессы [42].

Распространенность артериального тромбоза у пациентов с болезнью Виллебранда изучалась Sanders Y.V. и др. В исследовании принимали участие 635 пациентов, за контроль брали общую частоту развития артериальных тромботических осложнений в популяции. В результате в 5 (0.79%) случаях развился ИМ, в 3 (0.47%) – ишемический инсульт, в 12 (1.89%) – нестабильная стенокардия и в 9 (1.42%) – ТИА. Не было выявлено ни одного случая ОААНК. У 8 (1.26%) пациентов было отмечено более одного

артериального тромботического осложнения. Авторы предполагают, что при дефиците ФВ риск артериального тромбоза снижается на 35-67% по сравнению с общей популяцией. Неясно, что служит причиной данного явления – склонность данных больных к гипокоагуляции или снижение развития атеросклероза. Сопутствующее снижение концентрации VIII фактора является значимым в отношении развития артериальных тромботических осложнений только при достижении уровня менее 1%, что встречается только при тяжелых формах гемофилии А [171, 187, 188].

В работе Sonneveld M.A. и др. выявлена взаимосвязь концентраций ФВ и ADAMTS-13 с риском развития ишемического инсульта и ТИА у 5941 пациента старше 55 лет без данных событий в анамнезе. Низкая концентрация ADAMTS-13 и высокая концентрация ФВ значительно увеличивали риск развития инсульта, причем среднее время его развития у данной группы пациентов составило 5.8 лет [183].

Green D. и др. измеряли активность ФВ и ADAMTS-13 у 20 пациентов с заболеваниями периферических артерий каждые 2 месяца в течение 10 месяцев. У всех пациентов в дальнейшем были выявлены ИМ, нестабильная стенокардия, ишемический инсульт или внезапная сердечная смерть. Замечено, что до развития этих событий наблюдался постепенный рост уровня ФВ и незначительный ADAMTS-13, приводящий к сдвигу в сторону гиперкоагуляции [109].

Уровень ФВ у пациентов с ОААНК превышает таковой у здоровых добровольцев, причем степень увеличения активности ФВ прямо коррелирует с тяжестью атеросклеротического процесса [82]. Измерение уровня ФВ осуществлялось у 78 пациентов с сочетанием ОААНК и сахарного диабета 2 типа, которым позже проводилась ТЛБАП. 29 пациентов имели IIБ стадию заболевания по классификации А.В. Покровского - Фонтейна, 49 – III стадию. Забор крови производился из кубитальной вены и бедренной артерии. Дополнительно до и сразу после процедуры бралась кровь из артерий в зоне ишемии. Первичные показатели ФВ были выше в

исследуемой группе по сравнению с группой контроля, причем наибольшими в зоне ишемии, чем в крови из других источников. Уровень ФВ в зоне ишемии повысился сразу после оперативного вмешательства и достиг максимального в течение 24 часов, возвращаясь к исходному уровню в течение 7 дней. Еще через 7 дней уровень ФВ стал ниже исходного [95]. Интересен тот факт, что степень ЭД относительно концентрации ФВ может определяться только при анализе последнего непосредственно в зоне поражения. По данным Woodburn и др. уровень ФВ в артерии после ТЛБАП оставался повышенным в течение 7 дней, тогда как его уровень в венозной крови не менялся в течение 4 месяцев [167]. Tsakiris D.A. и др. отметили, что у пациентов с большей концентрацией ФВ до и после ТЛБАП бедренно-подколенного сегмента большая склонность к рестенозу. Повышенный уровень ФВ в периоперационном периоде также служит предиктором неблагоприятного исхода бедренно-подколенного шунтирования [189]. Влияние концентрации ФВ и эндотелина-1 на процесс рестеноза изучалось Yang H. и др. В исследование вошли 61 пациент с атеросклерозом сонных артерий. Измерения показателей проводились до и через 2 недели, 6 месяцев и 12 месяцев после стентирования внутренней сонной артерии. У 14 пациентов в послеоперационном периоде был выявлен рестеноз, у 3 из них более 50%, не сопровождавшийся клинической симптоматикой и не требующий повторных вмешательств. Концентрация ФВ и эндотелина-1 у данных пациентов была выше по сравнению с остальными пациентами в течение 6 месяцев, снижаясь до исходного уровня только через 12 месяцев после процедуры. Показатели 47 пациентов без рестеноза зоны реконструкции вернулись к исходным значениям через 2 недели после вмешательства [196]. Доказано, что уровень ФВ прямо коррелирует с количеством имплантируемых стентов в коронарных артериях и является предиктором неблагоприятных сердечно-сосудистых событий после данных вмешательств [12, 115].

Доклинические и клинические испытания проходит новая группа препаратов – ингибиторов ФВ. Антитела 82D6A3 блокируют способность ФВ связываться с коллагеном сосудистой стенки. Доказана высокая антитромботическая активность в эксперименте на бабуинах. Антитела AJvW2, AJW200, 6B4 и h6B4 препятствуют связи ФВ с тромбоцитом, блокируя домен A1 ФВ. AJW200 был также исследован на здоровых добровольцах, геморрагических осложнений не выявлено. ARC1779 – аптамер, связывающийся с доменом A1 ФВ. Его антитромботический эффект дополняется повышением количества тромбоцитов у пациентов с тромбоцитопенической пурпурой благодаря блокированию спонтанной ФВ-зависимой агрегации тромбоцитов и препятствует тромбоцитопении у пациентов с болезнью Виллебранда 2B типа. Согласно последним исследованиям, ARC1779 снижает эмболизацию у пациентов при проведении каротидной эндартерэктомии. Препарат ALX-0081 блокирует участки ФВ, посредством которых он связывается с GPIIb/3-рецепторами тромбоцита. Его эффективность доказана на животных моделях и у пациентов с чрескожными коронарными вмешательствами. Разработан и рекомбинантный препарат ADAMTS-13, оказавший положительный эффект в отношении тромбоза при эксперименте на мышах. Все новые препараты превосходят имеющиеся на рынке, как в отношении антитромботического эффекта, так и геморрагических осложнений [92].

ПАИ-1, входящий в семейство ингибиторов сериновых протеиназ, представляет собой одноцепочечный гликозилированный полипептид. ПАИ-1 имитирует субстрат сериновой протеиназы и блокирует ее, образуя устойчивый комплекс. ПАИ-1 может находиться в трех конформациях – активной, латентной и расщепленной. В активной конформации ПАИ-1 нестабилен и готов к взаимодействию с сериновой протеиназой. Переход в латентную конформацию, когда связь с протеиназой невозможна, происходит спонтанно. Расщепленная конформация образуется после

контакта с протеиназой, в результате которого происходит разрыв связей в ПАИ-1.

ПАИ-1 в норме содержится в тромбоцитах (~90%) и плазме крови. Синтез же ПАИ-1 происходит в клетках различных типов – в гепатоцитах, тромбоцитах, эндотелиоцитах, гладкомышечных клетках, моноцитах и макрофагах. Синтез ПАИ-1 могут стимулировать цитокины, гормоны, липиды, альдостерон, ИЛ-1, ФНО- α и другие. При травме сосудистой стенки уровень ПАИ-1 в плазме увеличивается в 10 раз из-за активации тромбоцитов. В зоне травмы ингибируются ТАП и урокиназный активаторы плазминогена (УАП), нарушается процесс фибринолиза. Известно, что врожденный дефицит ПАИ-1 приводит к доминированию фибринолитической системы и множеству геморрагических осложнений.

Другой функцией ПАИ-1 является управление миграцией гладкомышечных клеток (ГМК) в сосудистой стенке. ПАИ-1 образует комплекс с УАП, рецептором УАП, липопротеид низкой плотности рецептор-ассоциированным белком-1 и интегрином. Данный комплекс запускает непрерывный цикл реакций, приводящих к ГМК и образованию неинтимы [179, 200]. В эксперименте на мышах доставка гена ПАИ-1 с помощью аденовирусов приводила к стимулированию образования неинтимы после ТЛБАП. У дефицитных по ПАИ-1 мышей формирование неинтимы было уменьшено. Регуляция активности ПАИ-1 в этих условиях происходит с помощью тканевого фактора роста- β 1 [178].

Активность ПАИ-1 может зависеть от генотипа пациента. В исследовании Parvugga Т.К. и др. анализировали полиморфизм гена ПАИ-1 у пациентов с проходимыми коронарными артериями и с наличием коронарной окклюзии после госпитализации по поводу острого коронарного синдрома. Были выявлены 4G/4G, 4G/5G и 5G/5G виды полиморфизма гена. После проведения статистического анализа оказалось, что только генотип 4G/5G ассоциировался с окклюзией коронарных артерий. Носительство 4G/5G

увеличивает риск окклюзии в 1.6 раза по сравнению с другими видами полиморфизма [162].

При атеросклерозе повышенные концентрации ПАИ-1 отрицательно сказываются на формировании атеросклеротических бляшек. ПАИ-1 приводит к образованию тонких покрышек, ингибируя рецептор УАП и миграцию клеток. Бляшка с тонкой покрышкой неустойчива и легко повреждается, что может привести к развитию тромботических осложнений [161]. В интима и меди артерий нижних конечностей, пораженных атеросклерозом, было выявлено повышенное значение ПАИ-1 [175]. Голуховой Е.З. и др. установлено, что повышенный уровень ПАИ-1 является предиктором неблагоприятных сердечно-сосудистых событий, таких как нефатальный ИМ, тромбоз и рестеноз стента, у пациентов после чрезкожного коронарного вмешательства с имплантацией стентов [12].

Vjorck J. и др. интересовались изменением активности ПАИ-1 в периоперационном периоде. В исследование были включены 32 пациента с КИНК. 20 из них были проведены эндоваскулярные вмешательства, 6 – открытые операции, 3 – тромболитическая терапия и 3 – консервативное лечение. В результате уровень ПАИ-1 повысился у 10 пациентов в 1 день, у 3 пациентов на 6 день и у 5 пациентов на 30 день после оперативного вмешательства. В среднем, у данной группы уровень ПАИ-1 начал снижаться с 6 дня. Взаимосвязи уровня ПАИ-1 с видом лечения выявлено не было [78]. В другом исследовании участвовали 40 пациентов с ОААНК. 11 пациентов имели III стадию заболевания, 29 – IV стадию заболевания по А.В. Покровскому-Фонтену. В дальнейшем 5 пациентов были исключены из исследования в связи с невозможностью проведения шунтирования. Дистальный анастомоз в 17 случаях был выполнен с подколенной артерией, в 18 – берцовыми артериями. 23 шунтирования были аутовенозными, в 12 случаях использовался политетрафторэтиленовый протез. За 30-дневный период наблюдения у 1 пациента развился тромбоз шунта, потребовавший ампутацию голени, и у 2 пациентов развился ИМ. До оперативного

вмешательства у всех пациентов отмечались высокие уровни фибриногена, тромбин-антитромбинного комплекса, Д-димера и ТАП. Исходные значения ПАИ-1 не были повышены. Интраоперационно наблюдалось повышение тромбин-антитромбинового комплекса, ПАИ-1 и Д-димера, тогда как уровни фибриногена и ТАП снижались. В послеоперационном периоде уровень Д-димера оставался повышенным в течение 30 дней, уровень ПАИ-1 вернулся к исходным значениям к 7 дню после операции. Уровень ТАП возрастал в течение 30 дней после операции, но не вернулся к исходному уровню [163]. В своем исследовании Лазаренко В.А. и др. установили, что пациенты с ОААНК имели исходно высокий уровень ПАИ-1 как в системном кровотоке, так и в пораженной конечности. Его значения повышались при реконструктивно-восстановительных вмешательствах на магистральных артериях. Наиболее выраженные изменения наблюдались в местном кровотоке, что подтверждает участие эндотелия в регуляции гемостаза. Авторы рекомендуют мониторинг ПАИ-1 в пред- и – послеоперационном периоде для снижения тромботических осложнений зоны реконструкции [40]. Существуют противоречивые исследования об уровне корреляции ПАИ-1 с показателем лодыжечно-плечевого индекса у пациентов с ОААНК [157, 165].

Послеоперационный уровень ПАИ-1 по данным некоторых авторов может служить критерием диагностики рестеноза у пациентов, перенесших ТЛБАП. Отмечено, что высокие значения ПАИ-1 через 24-48 часов после данных процедур в дальнейшем коррелировали с повышенным риском рестеноза [167]. В другом, более объемном исследовании, из всех определяемых эндотелиальных гемостатических факторов (ФВ, ТМ, ТПА, ТФ) только взаимосвязь ТФ с риском рестеноза была признана статистически значимой [132].

Разработаны низкомолекулярные антагонисты ПАИ-1 (XR330, XR334, XR1853, XR5082, XR5967, XR1121), трансформирующие его в латентную форму. Применение XR334, XR5082 и XR1853 на крысах существенно

увеличивали фибринолиз. Ингибитор ТМ5275 был протестирован на приматах и мышах. Антитромботический эффект ТМ5275 схож с эффектами тиклопидина и клопидогреля. ТМ 5275 не влияет на АЧТВ, протромбиновое время и не увеличивает время кровотечения. Типлактинин (ПАИ-039) в эксперименте на крысах показал антитромботический эффект, выразившийся в предотвращении окклюзии коронарной артерии у части животных, увеличении времени образования тромба и уменьшении его длины. Типлактинин уменьшает миграцию гладкомышечных клеток и гиперплазию неоинтимы [124, 178].

ПрС - витамин К зависимый гликопротеин, который является основным физиологическим антикоагулянтом. Он синтезируется гепатоцитами в печени в виде полипептидной цепи. По аминокислотной последовательности и структуре ПрС высокоомологичен тромбину и другим витамин К-зависимыми коагуляционным факторам: VII, IX, X. ПрС связывается с эндотелиальным рецептором к ПрС (ЭРПС), где активируется тромбин-тромбомодулиновым комплексом. Активный ПрС реализует антикоагулянтный эффект, расщепляя Va и VIIIa факторы свертывания крови. Кофактор ПрС – протеин S – способен многократно усилить данный эффект. Установлено, что распределение ЭРПС и ТМ на клетках разных тканей является неодинаковым. Высокие уровни ЭРПС находятся на поверхности эндотелия больших сосудов, тогда как ТМ больше на эндотелии малых. В плазме некоторых людей определяется растворимая форма рецептора к ПрС, которая отличается от обычного рецептора отсутствием трансмембранного домена и цитоплазматического «хвоста». рЭРПС имеет схожее сродство к ПрС и активированному ПрС, как и ЭРПС, однако подавляет антикоагулянтную активность ПрС, блокируя его способность связываться с фосфолипидной поверхностью.

Цитопротективные эффекты ПрС проявляются через рецепторы ЭРПС и ПАР-1. Противовоспалительное действие ПрС связано с ингибированием высвобождения медиаторов воспаления (ФНО- α и ИЛ-1 β) и регулированием

сосудистых молекул адгезии (ICAM-1, VCAM-1 и E-селектин), уменьшая тем самым адгезию лейкоцитов и тканевую инфильтрацию, что ограничивает повреждение ткани. Модулируя экспрессию генов, ПрС регулирует противовоспалительную и антиапоптозную активность. Стабилизирование эндотелиального барьера осуществляется через регулирование образования сфингозин-1-фосфата при помощи сфингозинкиназы. Сфингозин-1-фосфата в дальнейшем через рецептор S1P1 уменьшает эндотелиальную проницаемость и стабилизирует клеточный цитоскелет.

Разъединение ПрС с ЭРПС приводит к его высвобождению в плазму, где он инактивируется рядом ингибиторов: ингибитором протеиназы $\alpha 1$, ПАИ-1, ингибитором ПрС. Нейтрализация ПАИ-1 в комплексе с ПрС увеличивает фибринолитический потенциал [20, 43, 81]. Другой механизм усиления процесса фибринолиза ПрС связан с антикоагулянтным эффектом ПрС на формирование тромбина, что приводит к снижению активации TAFI комплексом тромбин — тромбомодулин. Centelles N.M. и др., ингибируя ЭРПС моноклональными антителами, наблюдали увеличение времени окклюзии сонной артерии у мышей после инъекции хлорида железа (III) [83]. Стенты с покрытием из активированного ПрС, имплантированные в подвздошные артерии кроликов, не тромбировались в отличие от стандартных стентов [102]. Имплантация аналогичных стентов в коронарные артерии свиней показала снижение воспалительной реакции, неоинтимальной гиперплазии и рестеноза по сравнению с обычными стентами [146].

В популяции дефицит ПрС составляет 0.2% - 0.4%, дефицит протеина S – 0.2%, резистентности к ПрС (Лейденская мутация) – 4-5%. Voeckhodt S.M. и др. показали, что у 8% из 144 пациентов артериальные тромбозы были ассоциированы именно с дефицитом ПрС и протеина S [87]. По другим источникам, частота тромботических осложнений при дефиците ПрС и протеина S составляет 0.32%, у недефицитных пациентов – 0.19%, и развиваются они в среднем на 7-11 лет раньше, чем у недефицитных

пациентов [142, 181]. В исследование Mahmoodi В.К. и др. вошли 552 пациента. 35% из них имели дефицит протеина S, 39% - ПрС и 26% - АТ III. Тромботические осложнения возникли у 0.34% дефицитных пациентов и 0.19% пациентов группы контроля. Риск тромботических осложнений при дефиците ПрС увеличивается в 6.9 раз, протеина S – в 4.6 раз и АТ III – в 1.1 раз, и развиваются они в среднем на 11 лет раньше по сравнению с общей популяцией. При неясной причине артериальных тромбозов авторы предлагают исследовать данные показатели для подбора адекватной антикоагулянтной терапии [148]. Выраженный дефицит протеина S описан Маки Н. и др. У женщины 21 года был диагностирован тромбоз левого желудочка на фоне перенесенного ИМ, тромбоз артерий левой нижней конечности и тромбоз правой почечной вены с распространением в нижнюю полую вену. Через 6 дней произошел тромбоз артерии правой нижней конечности, а левая нижняя конечность была ампутирована. После назначения ривароксабана новых тромботических осложнений выявлено не было [113].

При исследовании пациентов с заболеваниями периферических артерий дефицит протеина S был обнаружен у 17, ПрС – у 6 из 150 пациентов [191]. Комаи Н. и др. интересовала взаимосвязь активности ПрС и протеина S с тромботическими осложнениями. В исследовании приняли участие 95 пациентов с ОААНК, 51 из них имели КИНК. В 65 случаев было произведено шунтирование артерий бедренно - подколенного сегмента. Активность ПрС была снижена у 18.8% пациентов, протеина S – у 16.7%. Результаты в отношении тромботических осложнений у данных пациентов были хуже, а частота тромбозов и ампутаций выше по сравнению с остальными пациентами [130]. Этими же авторами доказано, что дефицит ПрС и протеина S более выражен у пациентов с КИНК и связан с более быстрым прогрессированием ОААНК [129]. В противовес Bloomstrand D. и др. отмечают, что уровень комплекса активированный ПрС-ингибитор ПрС хоть

и повышен у пациентов с ОААНК, не влияет на риск смерти или неблагоприятных сердечно-сосудистых событий [79].

Склонность к гиперкоагуляции, в том числе при дефиците ПрС и протеина S, отрицательно влияет на проходимость шунтов в долгосрочном периоде. Из 456 пациентов, которым выполнили инфраингвинальные шунтирования, у 57 отмечалась склонность к гиперкоагуляции. Проходимость шунтов у данной группы пациентов была снижена ($28\% \pm 7\%$ против $35\% \pm 5\%$) – как первичная ($37\% \pm 7\%$ против $45\% \pm 6\%$), так и вторичная ($41\% \pm 7\%$ против $53\% \pm 6\%$). Ампутации были произведены у 45% пациентов с гиперкоагуляцией, а их выживаемость составила 61%, против 33% и 74% у остальных пациентов, соответственно [89].

Таким образом, на сегодняшний день имеется недостаточное количество данных касательно влияния факторов внутреннего каскада коагуляции и гемостатических маркеров дисфункции эндотелия на тромботические осложнения у пациентов с ОААНК. Возможно, факторы внутреннего каскада коагуляции могут служить привлекательной мишенью для будущих эффективных и безопасных антитромботических средств. Доказано увеличение риска тромботических осложнений при системном атеросклерозе у лиц с повышенным уровнем XI фактора, несколько его ингибиторов в настоящее время уже проходят последний этап клинических исследований. Схожий эффект вызывает повышенная активность IX фактора, среди всех факторов внутреннего каскада коагуляции он обладает наибольшей вариацией ингибиторов, находящихся на разных этапах клинических и доклинических исследований. Больше всего данных, хоть и имеющих противоречивый характер, касательно тромботических осложнений при заболеваниях периферических артерий имеется о VIII факторе внутреннего каскада коагуляции. Существуют работы о проходимости сосудистых реконструкций при ингибировании VIII фактора, проведенные на животных.

Множество исследований были посвящены дисфункции эндотелия с позиций выработки NO, про- и противовоспалительных медиаторов, оценке активности тромбоцитов, в то время как роль гемостатических маркеров дисфункции эндотелия остается до конца не изученной. Повышенные уровни ФВ и ПАИ-1 неблагоприятно сказываются в отношении рисков тромбоза и рестеноза после проведения сосудистых реконструкций. Известно, что дефицит ПрС является фактором риска тромботических осложнений.

Тщательное исследование гемостатических маркеров эндотелиальной дисфункции и факторов внутреннего каскада коагуляции может способствовать поиску новых алгоритмов и подходов к антитромботической терапии у больных с периферическим атеросклерозом, а также поражением артерий прочих локализаций, включая коронарное русло и каротидный бассейн. В будущем полученные результаты могут выявить показания, либо противопоказания к применению, преимущества и недостатки антитромботической терапии, доступной в настоящее время, а также новых потенциальных противосвертывающих лекарств.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Диссертационная работа выполнена в рамках гранта Европейского общества сосудистых хирургов — European Society for Vascular Surgery Research Grant 2016: Impact of intrinsic coagulation path way factors activity and hemostatic markers of endothelial dysfunction on thrombotic complication sinpatients with atherosclerotic peripheral arterial disease. По дизайну исследование организовано как проспективное, в параллельных группах пациентов.

В исследование было включено 120 пациентов с периферическим атеросклерозом артерий нижних конечностей II-III стадиями заболевания по классификации А.В. Покровского-Фонтейна. В исследовании приняло участие 104 мужчин (86.7%), 16 женщин (13.3%). Средний возраст составил 61.9 ± 8.3 года. Группы были сопоставимы по возрастному, гендерному составу. Характеристика пациентов представлена в таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Клинические характеристики пациентов исследуемых групп

Показатели	Группа А	Группа В	Группа С
Возраст, годы	63.4 ± 7.9	63.9 ± 7.93	59.8 ± 8.34
Мужчины, n (%)	33 (82.5%)	35 (87.5%)	36 (90%)
Женщины, n (%)	7 (17.5%)	5 (12.5%)	4 (10%).
Стадия хронической ишемии нижних конечностей			
II ст., n (%)	11 (27.5%)	13 (32.5%)	32 (80%)
III ст., n (%)	29 (72.5%)	27 (67.5%)	8 (20%)
Сопутствующие заболевания			
Ишемическая болезнь сердца, n (%)	16 (40%)	19 (47.5%)	15 (37.5%)
Артериальная гипертензия, n (%)	15 (37.5%)	17 (42.5%)	20 (50%)
Постинфарктный кардиосклероз, n (%)	9 (22.5%)	8 (20%)	8 (20%)

Исходная анатомо-ангиографическая характеристика пациентов

Артериальный сегмент	Группа А	Группа В	Группа С
Аорто-подвздошный сегмент, n (%)	13 (32.5%)	17 (42.5%)	13 (32.5%)
Бедренно-подколенный сегмент, n (%)	27 (67.5%)	23 (57.5%)	27 (67.5%)

Критерии включения в исследование: мужчины или женщины старше 40 лет; наличие заболевания периферических артерий атеросклеротического генеза.

Критерии исключения: мужчин или женщин младше 40 лет; хроническая ишемия нижних конечностей другой этиологии (болезнь Бюргера, аортоартериит и т. д.), активный рак или период ремиссии менее 5 лет; декомпенсированный сахарный диабет; беременность или кормление грудью у женщин.

Первичными конечными точками были развитие тромботических осложнений у включенных в исследование пациентов. В качестве вторичных конечных точек - сохранность конечности у пациента или его смерть.

Все пациенты были разделены на 3 группы:

Группа А: 40 пациентов, которым выполнены открытые вмешательства на артериях аорто-бедренного и бедренно-подколенного сегментов.

Группа В: 40 пациентов, которым выполнены эндоваскулярные вмешательства артерий аорто-бедренного и бедренно-подколенного сегментов.

Группа С: 40 пациентов (группа контроля), которые проходили консервативное лечение.

Решение по выбору оптимального метода лечения принимала командой, состоящей из сосудистого хирурга, рентгенэндоваскулярного

хирурга, ангиолога и кардиолога, исходя из индивидуальных анатомо-физиологических особенностей пациентов, данных лабораторных и инструментальных методов исследования.

Основные показания, безусловно определены в рамках Трансатлантического консенсуса TASC II – (TransAtlantic Inter-Society Consensus) и отражены в Рекомендациях Российского общества ангиологов и сосудистых хирургов (2013). Оценку периферического русла производили с помощью шкалы оценки периферического сопротивления, разработанной R. Rutherford. Распределение пациентов по типу проводимого реконструктивно-восстановительного вмешательства представлено в таблицах 3 и 4.

Таблица 3

Распределение пациентов группы А по типу проводимого реконструктивно-восстановительного вмешательства

Наименование оперативного вмешательства	Количество вмешательств, n (%)
Бифуркационное аорто-бедренное шунтирование	9 (22.5%)
Перекрестное бедренно-бедренное шунтирование	4 (10%)
Бедренно-подколенное шунтирование выше щели коленного сустава	27 (67.5%)

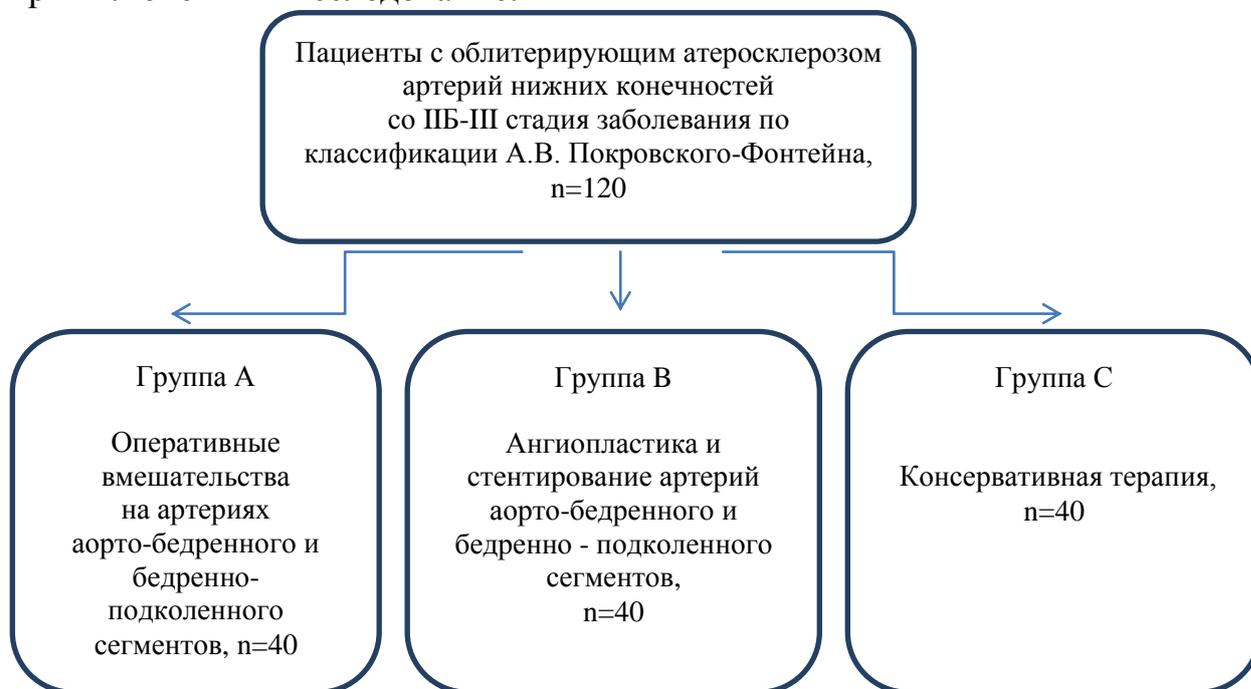
Распределение пациентов группы В по типу проводимого реконструктивно-восстановительного вмешательства

Артериальный сегмент	Количество оперативных вмешательств, n (%)	ТЛБАП	Стентирование
Бедренно-подколенный	23 (57.5%)	20 (50%)	3 (7.5%)
Подвздошно-бедренный	17 (42.5%)	3 (7.5%)	14 (35%)

Примечание: ТЛБАП – транслюминальная баллонная ангиопластика

Объем консервативной терапии у пациентов группы С включал гипохолестеринемические средства, дезагреганты, препараты, улучшающие реологию крови. Необходимо отметить, что в группу А вошли пациенты, оперированные только с использованием синтетических протезов. В послеоперационном периоде пациенты получали антикоагулянтную терапию нефракционированным гепарином (НФГ) под контролем АЧТВ совместно с антиагрегантным препаратом (клопидогрел либо препараты ацетилсалициловой кислоты) в течение 3-5 дней с последующим переходом на двойную антиагрегантную терапию. Всем больным проводились традиционные методы клинической лабораторной и инструментальной диагностики (общий и биохимический анализ крови, общий анализ мочи, коагулограмма, ЭКГ, ФЛГ, при необходимости ультразвуковое исследование сердца, органов брюшной полости и фиброгастроуденоскопия).

Согласно дизайну (рис. 3) исследования образцы периферической венозной крови были взяты от пациентов в группах А и В исходно и через 3 месяца после оперативного вмешательства; а у пациентов в группе С только при включении в исследование.



Обследование	Начало исследования	3 месяца	6 месяцев	12 месяцев
Физикальное обследование, измерение лодыжечно-плечевого индекса, дуплексное сканирование сосудов конечностей	X	X	X	X
Забор периферической крови для определения активности VIII, IX, XI факторов внутреннего пути свертывания; гемостатических маркеров эндотелиальной дисфункции (фактор Виллебранда, метаболиты оксид азота II), протеина С	X	X (для групп А и В)	-	-

Рис. 3 Дизайн исследования

Пациенты всех 3 групп через 3, 6 и 12 месяцев после оперативного вмешательства подвергались общему осмотру, измерению ЛПИ и УЗДС

артерий нижних конечностей для оценки тромботических осложнений, проходимости шунтов и прогрессирования заболевания. При УЗДС - контроле зоны реконструкции оценивались следующие показатели: проходимость зоны реконструкции, его диаметр, количественная оценка интимы-медии, наличие внутрипросветных образований и их анализ, определение степени стеноза, оценка паравазальных тканей [62, 63, 65].

Определение активности факторов внутреннего каскада коагуляции и гемостатических маркеров дисфункции эндотелия проводилось в Научно-клиническом центре гематологии, онкологии и иммунологии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. Кровь у больных забиралась из кубитальной вены утром натощак с 7 до 9 утра в 2 шприца - пробирки моноветы: белую - с активатором свертывания для сыворотки, и зеленую - с антикоагулянтом цитрат натрия 3.2% для плазмы. Затем кровь центрифугировалась в течение 20 минут на скорости в 3000 об/мин. Исследуемый материал разливался в микропробирки "Эппендорф": в 2 пробирки - по 1,5 мл сыворотки, в 5 пробирок - по 0,5 мл плазмы и затем доставлялся в лабораторию в течение 2 часов после забора крови, во избежание изменения активности факторов гемостаза.

Для определения активности ПрС применяли хромогенный с субстратом гемостазиологический метод, основанный на способности активированного ПрС гидролизовать пептидный хромогенный субстрат. В образце плазмы больного ПрС активируется специфическим активатором, получаемым из яда змей. В последствии протеин С оценивается в ходе кинетического теста путем измерения повышения абсорбции при длине волны 405 нм. Используемые реагенты: Berichrom Protein C (SIEMENS) Германия, CAGLEANI (SYSMEX) Япония, CAGLEAN II (SYSMEX) Япония. Применяемое оборудование: автоматический коагулометр SYSMEX CA 660 (Япония). Принцип метода определения активности фактора ФВ основан на агглютинации тромбоцитов в присутствии фактора ФВ и ристоцетина А. Выполнялось это с помощью мануальной методики с применением реагента

VonWillebrandReagent (содержит стабилизированные человеческие тромбоциты, ристоцетин, в лифилизованной форме) (SIEMENS), Германия. Для определения активности факторов внутреннего каскада коагуляции (VIII, IX, XI) использовали клоттинговый гемостазиологический метод. Принцип метода основан на способности улавливать изменения мутности исследуемой плазмы под воздействием реагентов вследствие образования нитей фибрина [47]. В ходе данного исследования применяли следующие реагенты: нормальная плазма (коммерческая) с референтными значениями факторов свертывания, субстратные дефицитные по VIII, IX, XI факторы плазмы: Coagulation Factor VIII Deficient Plasma, Coagulation Factor Deficient Plasma X, Coagulation Factor Deficient Plasma XI, Патромтин SL (SIEMENS) Германия, 0,277% раствор CaCl_2 , иммидазоловый буфер. Процедура выполнена на оптическом полуавтоматическом коагулометре SYSMEX CA 50. Лабораторная диагностика исследуемых показателей представлена в таблице 5.

Определение метаболитов оксида азота (II) в сыворотке крови осуществлялось по оригинальной методике фотоколориметрическим методом, предложенной сотрудниками ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России (рационализаторское предложение (удостоверение № 1317)) [32, 46].

Определение уровня метаболитов оксида азота (II) производили фотоколориметрическим методом, оценивая развитие окраски в реакции диазотирования нитратом сульфаниламида, который входит в состав реактива Грисса. С помощью иммуноферментного анализатора Stat Fax 3200 («Awareness Techonolog, Inc.») при длине волны 540 нм определяли интенсивность окраски. Для установления референтных значений уровня метаболитов NO исследовалась кровь у 40 здоровых добровольцев.

Таблица 5

Лабораторная диагностика факторов внутреннего каскада коагуляции и гемостатических маркеров дисфункции эндотелия

Показатели	Принцип метода	Аппарат	Реагенты
Активность ПрС	Хромогенный с субстратом	Автоматический Коагулометр SYSMEX CA 660 (Япония)	Berichrom ProteinC (SIEMENS) Германия, CAGLEANI (SYSMEX) Япония, CAGLEAN II (SYSMEX) Япония
Активность ФВ	Агглютинация тромбоцитов в присутствии фактора ФВ и ристоцетина А	Мануальная методика	Von Willebrand Reagent (SIEMENS) Германия
Активность факторов VII, IX, XI	Клоттинговый Гемостазиологический метод	Оптический, полуавтоматический коагулометр SYSMEX CA 50 (Япония)	Субстратные дефицитные по VIII, IX, XI факторы плазмы: Coagulation Factor VIII, IX, XI Deficient Plasma, Патромтин SL (SIEMENS) Германия, 0,277% раствор CaCL ₂ , иммидазоловый буфер
Метаболиты оксида азота (II)	Фотоколориметрический метод	Иммуноферментный анализатор Stat Fax 3200 («Awareness Techonolog, Inc.»)	Сыворотка крови пациентов, 96% этиловый спирт, раствор Грисса, раствор ванадия хлорида

Примечание: ФВ - фактор Виллебранда, ПрС – протеин С

Статистический анализ данных проводился с использованием пакета статистических программ Microsoft Office Excel, STATISTICA 10.0. Анализ данных проводили на соответствие распределения значений исследуемого признака закону нормального распределения. Для оценки нормальности распределения выборки использовался критерий Шапиро - Уилка. В связи с отклонением от нормального распределения для дальнейшего анализа использовались непараметрические тесты, данные были представлены в виде медианы и квартилей: для оценки статистических различий между двумя независимыми выборками осуществляли с помощью U- критерия Манна-Уитни, для сравнения двух зависимых выборок – критерий Уилкоксона. Корреляционный анализ был проведен на основании использования коэффициента Спирмена. Различия считались статистически значимыми при $p \leq 0.05$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Факторы внутреннего каскада и маркеры дисфункции эндотелия у пациентов группы С

В настоящее время не вызывает сомнения взаимосвязь процессоразвития атеросклероза и нарушений свертывающей системы крови. В своем исследовании Казанцев А.В. (2010) показал увеличение спонтанной и индуцированной агрегации тромбоцитов, концентрации фибриногена, D-димера, укорочение АЧТВ, тромбинового времени концентрации фоне снижения АТ III и ПрС. Наибольшая степень нарушений выявлена в группе с прогрессирующим течением ОААНК [27]. Однако, факторы внутреннего каскада коагуляции у пациентов с ОААНК изучена недостаточно, результаты проведенных исследований противоречивы.

Не менее важная роль в системе гемостаза у пациентов с ОААНК отводится гемостатическим маркерам, таким как ФВ, ПАИ-1, эндотелиальному рецептору ПрС. При физиологических условиях эндотелий продуцирует большое количество веществ, непрерывно связанных с гомеостазом, фибринолизом, нарушением сосудистого тонуса и проницаемостью сосудов. Одним из таких веществ, который синтезируется и накапливается в клетках эндотелия, является ФВ. В случае повреждения клеток эндотелия освобождение ФВ увеличивается, что дает основание использовать его в качестве индикатора нарушения функции эндотелия [60]. На данный момент существует мало работ, посвященных изучению активности ФВ у пациентов с ОААНК и его осложнениями, что явилось причиной его изучения в данной работе.

Ниже будут представлены и обсуждены полученные результаты исследования факторов внутреннего каскада (VIII, IX, XI), гемостатических маркеров ЭД (ФВ, NO) и ПрС, как естественного антикоагулянта у пациентов с ОААНК при различных видах лечения, таблица 6.

Количественные значения активности показателей факторов внутреннего каскада и гемостатических маркеров дисфункции эндотелия у пациентов группы С

Показатели	ПрС (%)	ФВ (%)	VIII фактор (%)	IX фактор (%)	XI фактор (%)	NO (мкМ/мл)
Норма	70-130	70-150	70-150	70-150	70-130	72-80
Медиана	105.9	300	134	201.8	132.1	71.9
Нижняя-Квартиль	94.7	160	96.6	122.3	101	50
Верхняя-Квартиль	114.4	400	156.9	255.2	159	95.4

Примечание: ФВ – фактор Виллебранда, ПрС – протеин С, NO – метаболиты оксида азота (II)

Как видно, из данных таблицы 6 значения активности ФВ у пациентов группы контроля превышают норму в 2 раза. Это согласуется с полученными результатами других авторов. Казанцев А.В. (2010) в своей работе показал статистически значимое увеличение ФВ у пациентов с ОААНК по сравнению со здоровыми добровольцами [27].

Уровень метаболитов NO соответствовал уровню здоровых добровольцев. Согласно литературным данным уровень NO в группах здоровых добровольцев равен от 37.2 до 87.2 мкМ/мл [45]. В нашем исследовании уровень NO у здоровых добровольцев находился в тех же границах и составил 76.3 ± 4.0 мкМ/мл. NO играет ключевую ангиопротекторную роль еще на ранних стадиях атеросклероза. NO подавляет пролиферацию гладкомышечных клеток сосудов, предотвращая тем самым ремоделирование сосудистой стенки, прогрессирование атеросклероза [13, 24, 66, 140]. Нормальный уровень NO можно объяснить 1 стадией функциональной перестройки эндотелия – повышением синтетической активности эндотелиоцитов [35].

Из факторов внутреннего каскада коагуляции повышены значения активности IX и XI факторов при нормальном уровне VIII фактора. Нормальный уровень ПрС в крови не позволил произойти реципрокному повышению VIII фактора следом за ФВ, что подтверждено корреляционным анализом.

По результатам исследования рассчитаны корреляционные связи между активностью исследуемых показателей (рис. 4, 5). Определялась средняя корреляция между ФВ и VIII фактором ($r=0.421$), ПрС и VIII фактором ($r=-0.423$), ФВ и возрастом пациентов ($r=0.442$), активностью VIII и IX факторов ($r=0.603$), VIII и XI факторов ($r=0.609$), IX и XI факторов ($r=0.603$).

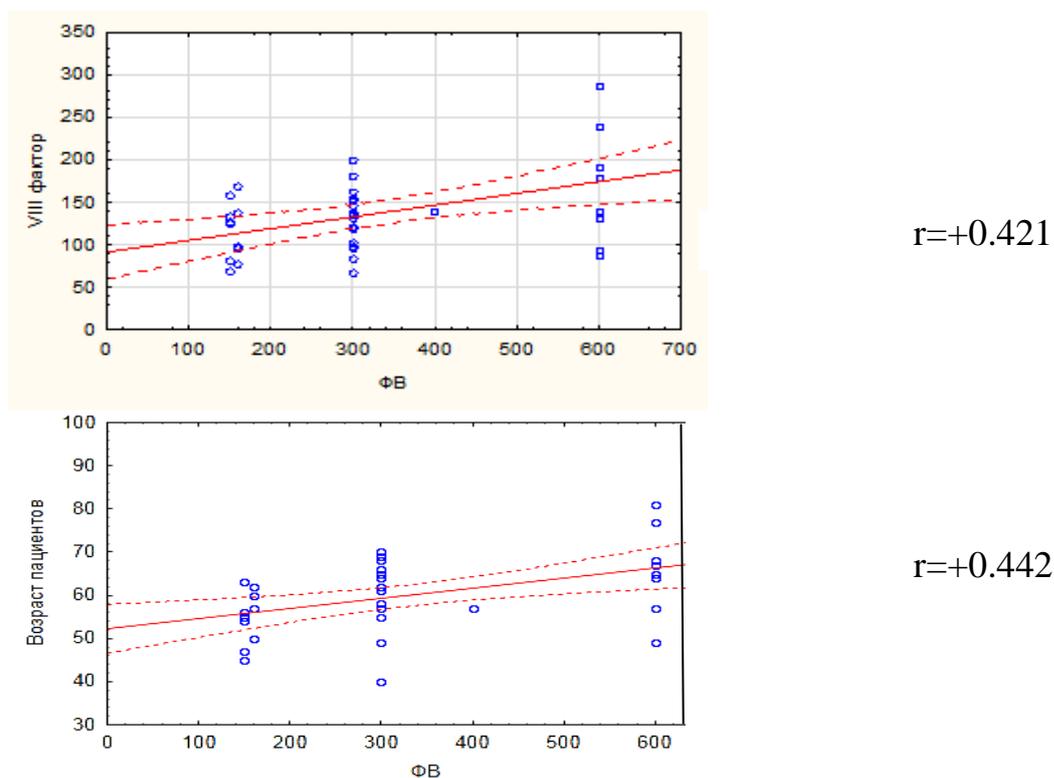
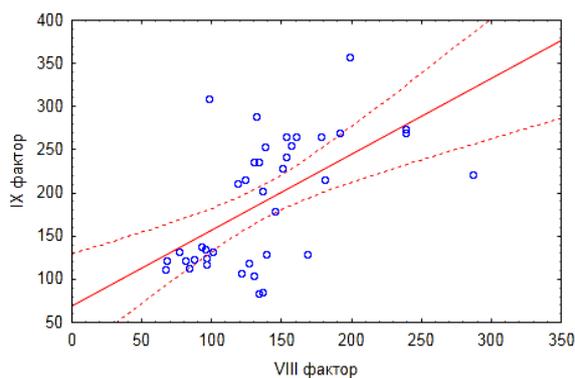
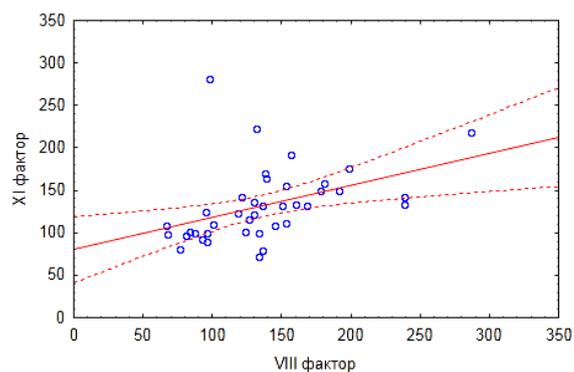


Рис. 4 Корреляционный анализ: r – коэффициент корреляции.

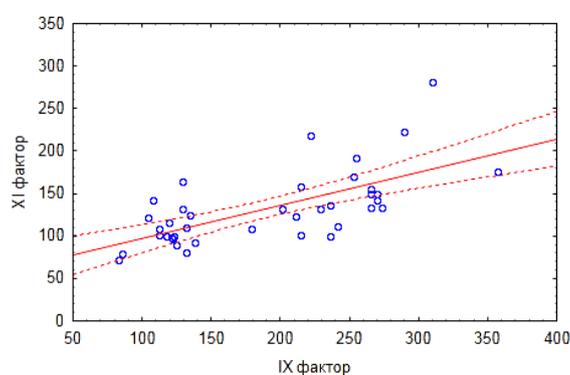
Отношение фактора Виллебранда с VIII фактором и возрастом пациентов



$$r=+0.603$$



$$r=+0.609$$



$$r=+0.603$$

Рис. 5 Корреляционный анализ: r – коэффициент корреляции.

Взаимосвязи между VIII, IX, XI факторами

Выявленные корреляционные связи можно объяснить следующим образом: ФВ – мультимерный адгезионный гликопротеин, который в плазме крови образует комплекс с VIII фактором, стабилизируя его и защищая от протеолиза ПрС [107]. Взаимосвязи VIII, IX, XI факторов, следуя клеточной теории гемостаза, можно объяснить следующим образом: в фазу амплификации тромбин способствует высвобождению VIII фактора из комплекса с ФВ и активизации XIа. Дополнительное количество IXа фактора образуется на тромбоцитах под действием XIа фактора. Теназный комплекс представляет собой VIIIа/IXа [156]. У пациентов старших возрастных повышение ФВ связано с тем, что сосудистая стенка снижает синтез простациклина, нередко переходя на выработку субстанций с проагрегирую-

щими свойствами [93].

Через 6 месяцев после включения в исследование у 3 (7.5%) пациентов группы С выявлен ИМ, по поводу которого пациентам проведено специализированное лечение. Исходно у этих пациентов была повышена активность ФВ, VIII, IX, XI факторов, при нормальном уровне ПрС и сниженном NO. Статически значимое увеличение активности было получено только для ФВ ($p=0.019$, рис. 6).

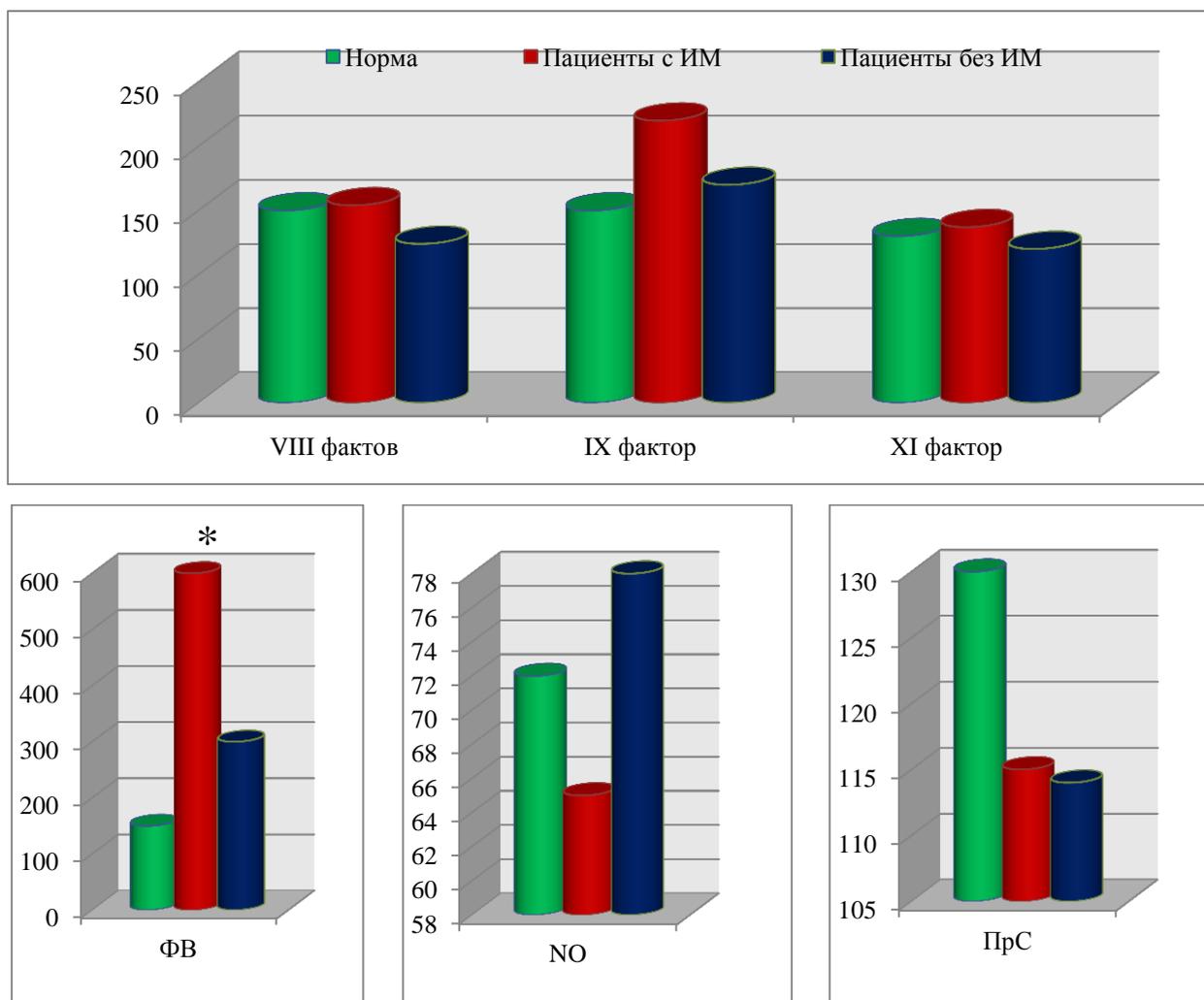


Рис. 6 Основные тенденции изменения показателей ФВ, VIII, IX, XI факторов, ПрС и NO у пациентов с инфарктом миокарда и остальных пациентов группы контроля

Примечание: * - значимое отличие показателей между группами ($p<0.05$), ИМ – инфаркт миокарда, ФВ – фактор Виллебранда, ПрС – протеин С, NO – метаболиты оксида азота (II)

Роль ФВ как предиктора развития ИМ может быть обусловлена его функциями: способствует адгезии тромбоцитов к эндотелию и защищает VIII фактор от протеолиза ПрС, тем самым определяя тромбоцитарный и фибриновый компоненты артериального тромбоза, соответственно. Costa C. et al. в своем исследовании показал корреляцию концентрация комплекса VIII фактор - ФВ с риском обострения ИБС и развития ИМ [88].

3.2 Факторы внутреннего каскада и гемостатические маркеры дисфункции эндотелия у пациентов группы В

Эндоваскулярные методики рассматриваются в качестве первой линии лечения в большинстве случаев и набирают обороты по сравнению с открытыми методами лечения. Результаты эндоваскулярных вмешательств впечатляют, однако проблема послеоперационных тромботических осложнений остается весьма актуальной. По данным исследования Katsanos K. et al. (2017 г.) в течение первого года тромбируются до 12.5% стентов с лекарственным покрытием и 1.4% без покрытия [126]. Неудачи в лечении больных с ОААНК могут быть обусловлены изменениями, происходящими в системе гемостаза в периоперационном периоде. В настоящий момент времени нет единого взгляда на значимость и стандартизированный подход к оценке величины тромбогенной опасности, так как невозможно определить в каждом клиническом случае их критичность. Актуальность изучения системы гемостаза у пациентов обусловлена тем, что при ОААНК происходит многоуровневый и многокомпонентный каскад нарушений системы гемостаза, связанный с взаимодействием множества факторов, объединяющихся на основе функционального взаимодействия в систему патогенеза тромбогеморрагических осложнений [18, 98].

Ниже будут представлены и обсуждены полученные результаты исследования факторов внутреннего каскада (VIII, IX, XI), гемостатических маркеров ЭД (ФВ, NO) и ПрС, как естественного антикоагулянта у пациентов с ОААНК до и после эндоваскулярных вмешательств.

Значения активности факторов внутреннего каскада свертывания и гемостатических маркеров ЭД до и через 3 месяца после эндоваскулярного вмешательства представлены в таблице 7 и на рис. 7.

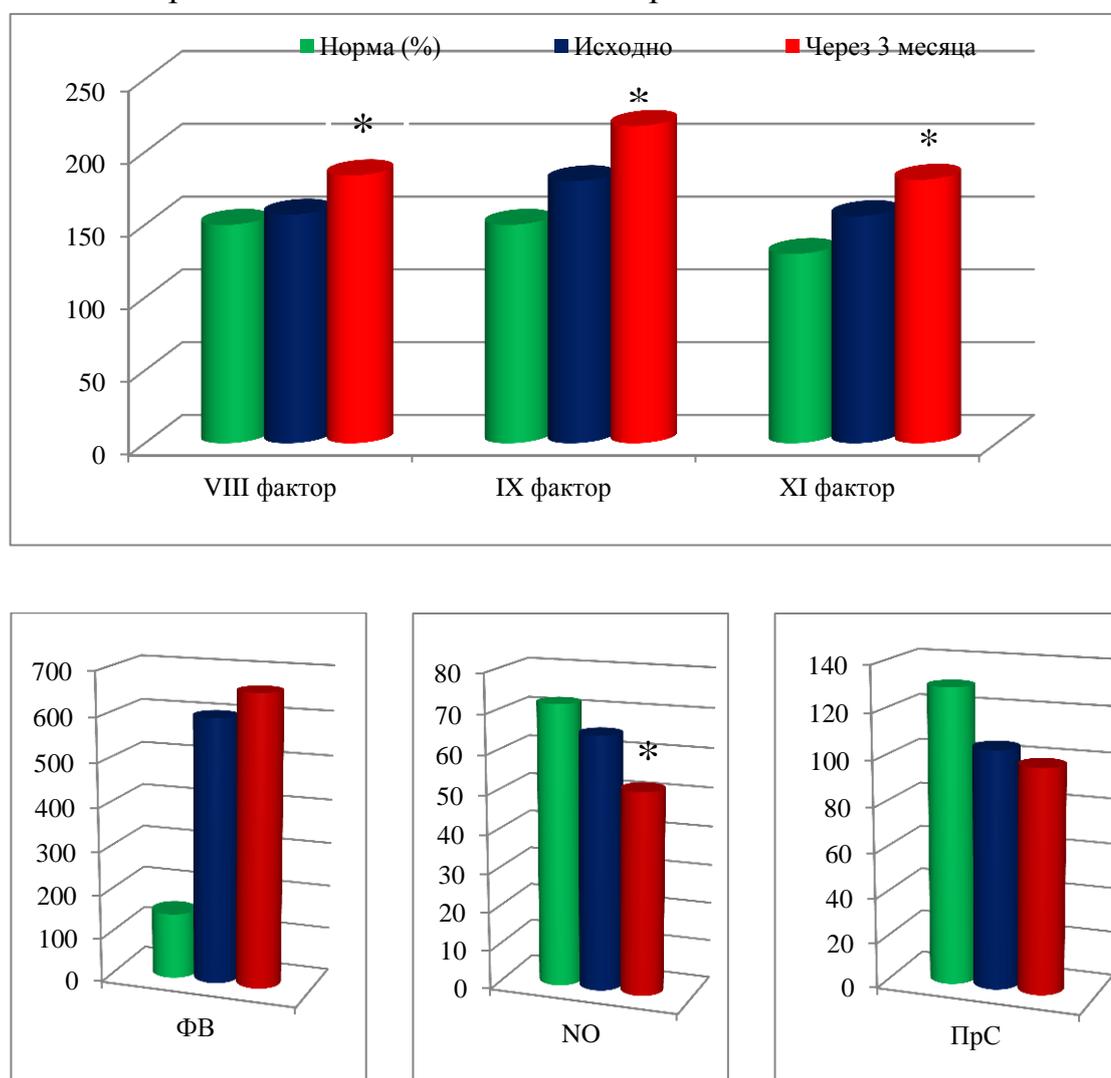


Рис. 7 Динамика изменений VIII, IX, XI факторов, PrC, ФВ, NO до и через 3 месяца после эндоваскулярного вмешательства

Примечание: * - значимое отличие показателей между группами ($p < 0.05$), ФВ – фактор Виллебранда, PrC – протеин С, NO – метаболиты оксида азота (II)

Из представленных данных таблицы 7 и рис. 7 видно, исходное увеличение активности ФВ в 4 раза по сравнению с нормой. Повышение активности VIII, IX, XI факторов при нормальном уровне PrC и сниженном NO.

В своей работе Сучков И.А. (2013) показал, что с повышением стадии заболевания ОААНК секреторные возможности эндотелия по выработки NO снижаются.

Таблица 7

Количественные значения активности показателей факторов внутреннего каскада и гемостатических маркеров дисфункции эндотелия у пациентов группы В

Показатели		ПрС (%)	ФВ (%)	VIII фактор (%)	IX фактор (%)	XI фактор (%)	NO (мкМ /мл)
Норма		70-130	70-150	70-150	70-150	70-130	72-80
Значения до операции	Медиана	89	600	157	180	156	65
	Нижняя-Квартиль	86	300	128	134	92	48
	Верхняя-Квартиль	114	1200	210	237	195	72
Значения через 3 месяца после операции	Медиана	99	660	184	218	181	52
	Нижняя-Квартиль	89	300	138	156	119	35
	Верхняя-Квартиль	103	800	271	297	226	69

Примечание: ФВ – фактор Виллебранда, NO - метаболиты оксида азота (II), ПрС - протеин С

Через 3 месяца после оперативного вмешательства прослеживается дальнейшее увеличение активности ФВ, VIII, IX, XI факторов на фоне снижения NO и ПрС. Прирост для ФВ 10%, VIII фактора 17.2%, для IX фактора 21.1%, XI фактора 16%, ПрС снизился 6%, NO снизился на 20%. Статистически значимые изменения были получены для VIII фактора ($p=0.012$), IX ($p=0.010$), XI ($p=0.011$), NO ($p=0.027$). После операции пациенты получали НФГ под контролем АЧТВ совместно с антиагрегантным препаратом (клопидогрел) в течение 3-5 дней с последующим переходом на

двойную антиагрегантную терапию. Несмотря на проводимую терапию, мы наблюдаем повышенные значения ФВ, VIII, IX, XI факторов. Через 3 месяца после операции имеет место существенное изменение функционального состояния эндотелия, о чём свидетельствует выраженная динамика показателей NO и ФВ, что соответствует 2 стадии функциональной перестройки эндотелия [35]. Повышение активности VIII, IX, XI факторов происходит в ответ на операционную травму. По результатам проведенного исследования выявлены корреляционные связи между активностью исследуемых показателей. До операции определялась средняя корреляция между активностью VIII и IX факторов ($r=+0.332$), ПрС и возрастом пациентов ($r=-0.385$), VIII и XI факторов ($r=+0.609$), IX и XI факторов ($r=+0.517$), ФВ и VIII фактора ($r=+0.547$, рис. 8).

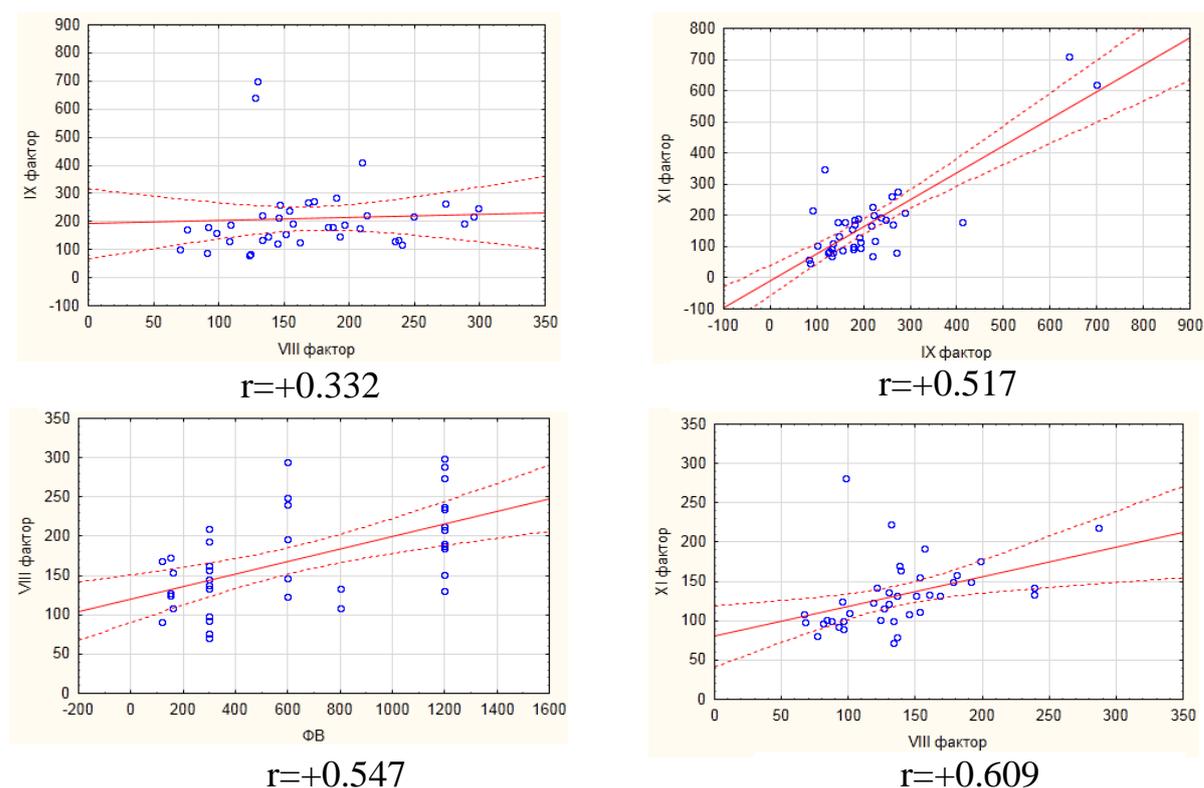
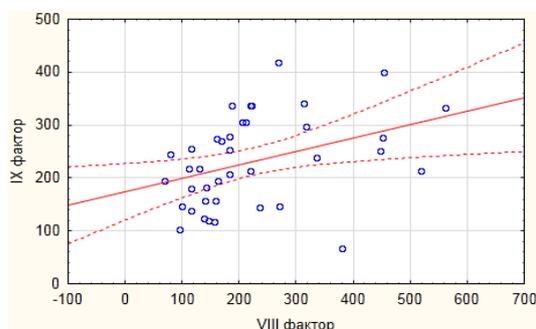


Рис. 8 Корреляционный анализ: r - коэффициент корреляции.

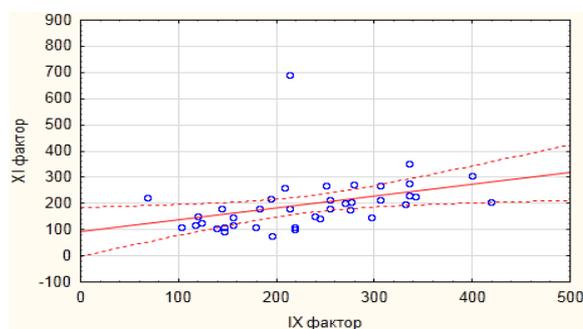
Взаимосвязи между ФВ, VIII, IX, XI факторами внутреннего каскада коагуляции до операции

Примечание: ФВ - фактор Виллебранда

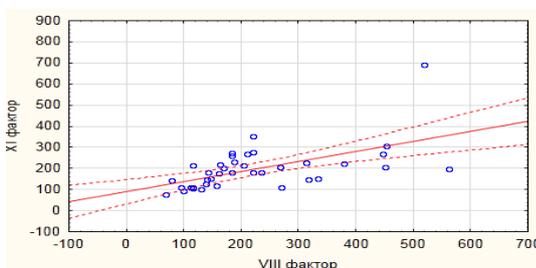
Через 3 месяца после операции определялась средняя корреляция между активностью VIII и IX факторов ($r=+0.457$), ПрС и возрастом пациентов ($r=-0.338$), ФВ и NO ($r=-0.517$), VIII и XI факторов ($r=+0.654$), IX и XI факторов ($r=+0.595$, рис. 9, 10).



$$r=+0.457$$



$$r=+0.595$$

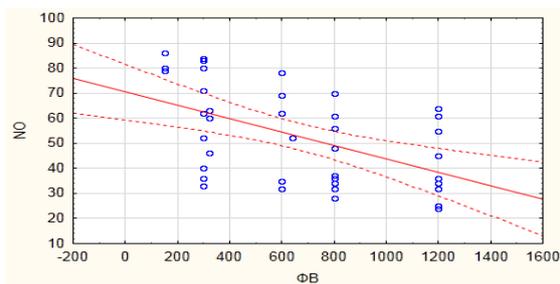


$$r=+0.654$$

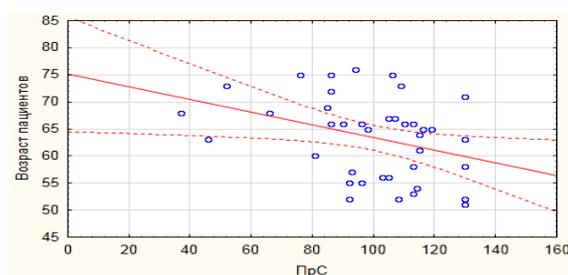
Рис. 9 Корреляционный анализ: r – коэффициент корреляции.

Взаимосвязи между ФВ, VIII, IX, XI факторами внутреннего каскада коагуляции через 3 месяца

Примечание: ФВ – фактор Виллебранда



$$r=-0.517$$



$$r=-0.338$$

Рис. 10 Корреляционный анализ: r – коэффициент корреляции.

Взаимосвязи между ФВ и NO, ПрС и возрастом пациентов

Примечание: ПрС – протеин С, NO – метаболиты оксида азота (II)

Обратную взаимосвязь между ФВ и NO можно объяснить отрицательным воздействием NO на секрецию ФВ. Классические эффекты NO опосредованы активацией растворимой гуанилатциклазы, генерацией циклического ГМФ (цГМФ), а также цГМФ-зависимой протеинкиназы-1. Ее активация приводит к ингибированию агонист-индуцированной мобилизации кальция и, следовательно, секреции ФВ [192].

Отрицательная корреляция ПрС с возрастом связана с тем, что в пожилом возрасте происходит сдвиг баланса гемостаза в сторону увеличения прокоагулянтной активности крови и усиления интенсивности внутрисосудистого тромбообразования. Об этом свидетельствует повышение концентрации I, VIII, XIII плазменных факторов свёртывания крови. В ответ на эту перестройку в системе прокоагуляционного гемостаза активируются антикоагулянтное звено и фибринолиз. Однако нарастание фибринолитической и антикоагулянтной активности крови отстаёт от роста её прокоагулянтной способности. В результате коагулянтные свойства крови при старении повышаются. Этому способствует также более выраженное у пожилых, по сравнению с молодыми, повышение прокоагулянтного звена в ответ на активацию симпатoadреналовой системы при стрессе на фоне мало меняющейся фибринолитической активности [17].

У 4 (10%) пациентов по данным УЗДС артерий нижних конечностей через 6 месяцев выявлен рестеноз зоны реконструкции, который потребовал повторного эндоваскулярного вмешательства с положительным эффектом. До операции у этих пациентов была повышена активность ФВ, VIII, IX, XI факторов, при сниженном уровне NO и нормальном значении ПрС. Статистически значимые изменения были получены для ФВ ($p=0.023$) и NO ($p=0.003$). Через 3 месяца наблюдается тенденция к росту активности ФВ, факторов внутреннего каскада, при дальнейшем снижении NO и ПрС. Статистически значимые изменения были получены для ФВ ($p=0.014$) и NO ($p=0.006$, рис. 11, таблица 8).

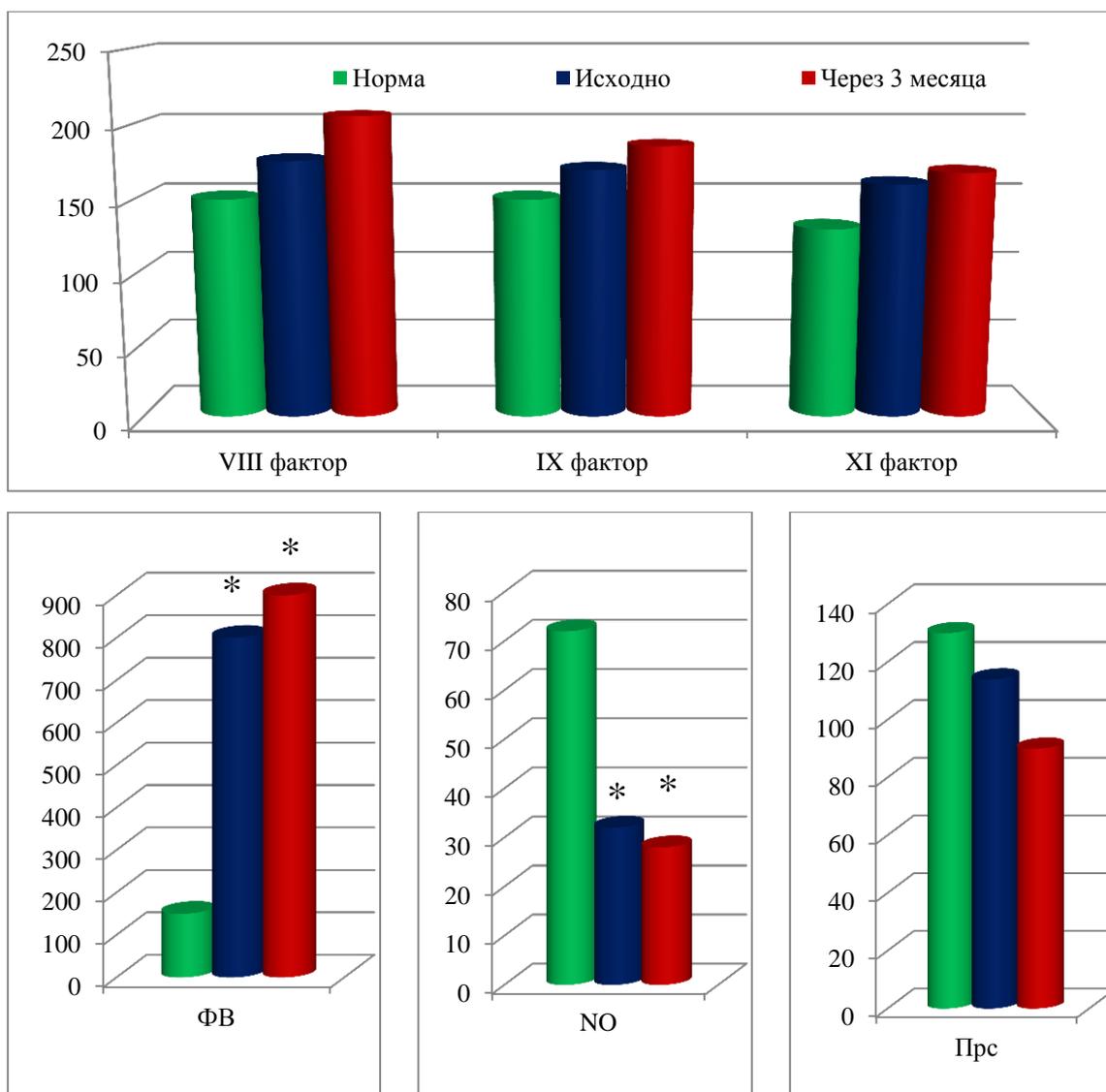


Рис. 11 Основные тенденции изменения показателей ФВ, VIII, IX, XI факторов, ПрС и NO у пациентов с рестенозом зоны реконструкции
Примечание: * - значимое отличие показателей между группами ($p < 0.05$)
ФВ – фактор Виллебранда, ПрС – протеин С, NO – метаболиты оксида азота (II)

Калинин Р.Е. (2009) показал, что ответная реакция артериальной стенки на прямое операционное повреждение представляется сложной многокомпонентной системой, в которой происходит сопряжение и взаимное влияние биохимических, морфологических и воспалительных процессов. Срыв адаптивных процессов и есть, по-видимому, один из основных факторов послеоперационных осложнений. Сниженный уровень NO является предиктором развития рестеноза зоны реконструкции [29, 33].

У одного 1 (2.5%) пациента через 3 месяца развился тромбоз зоны реконструкции, подтвержденный данными УЗДС артерий нижних конечностей. В связи с неэффективностью тромболитической терапии и в последующем развитием необратимой ишемии конечности была выполнена ампутация нижней конечности. Исходно значения ФВ, VIII, IX, XI факторов, NO были повышены по сравнению с остальными пациентами данной группы. Через 3 месяца происходило дальнейшее повышение факторов внутреннего каскада, активность ФВ не менялась на фоне снижения концентрации ПРС и метаболитов NO. Статистическая обработка данных невозможна из-за малого количества пациентов с тромбозом зоны реконструкции (таблице 8).

Таблица 8

Результаты ультразвукового мониторинга проходимости зон реконструкции у пациентов различные сроки после оперативного вмешательства

Осложнения/сроки наблюдения	Через 3 месяца	Через 6 месяцев	Через 12 месяцев
Тромбоз зоны реконструкции	1 (2.5%)	-	-
Рестеноз зоны реконструкции	-	4 (10%)	-
Прогрессирование атеросклероза	-	-	-
Проподимость не нарушена	39 (97.5%)	36 (90%)	-

3.3 Факторы внутреннего каскада и гемостатические маркеры дисфункции эндотелия у пациентов группы А

Наиболее эффективным методом лечения пациентов с ОААНК является оперативное лечение, которое, не устраняя причину развития заболевания, позволяет добиться реваскуляризирующего эффекта [48]. Однако проблема послеоперационных осложнений остается весьма актуальной. По данным различных авторов от 60-90% от всех поздних осложнений занимают тромбозы. Из них 79% тромбозов возникает в первые 5 лет. Частота тромботических осложнений после аорто-бедренных реконструкций колеблется от 59-42% и возрастает с увеличением длительности наблюдения за пациентами [4]. Все причины послеоперационных тромбозов делятся на основные и сопутствующие. К основным причинам относятся хирургические погрешности, несостоятельность дистального русла, прогрессирование заболевания. К сопутствующим – нарушения свертывающей системы крови. Известно, что повышенные уровни ТФ и VII факторов внешнего пути свертывания приводят к развитию артериального тромбоза. ТФ находится в адвентиции кровеносных сосудов и в липидном ядре атеросклеротической бляшки. Повреждение атеросклеротической бляшки инициируют коагуляцию крови из-за попадания ТФ из ее ядра в циркулирующую кровь, что приводит к активации коагуляционного каскада, формированию тромба и окклюзии сосуда [38]. Ray В. показал повышенную концентрацию ТФ у пациентов с перемежающейся хромотой в сравнении со здоровыми добровольцами. Максимальная концентрация ТФ была у пациентов с последующим рестенозом зоны реконструкции после ТЛБАП подвздошно-бедренного сегмента [166].

Ниже будут представлены и обсуждены полученные результаты исследования факторов внутреннего каскада (VIII, IX, XI), гемостатических маркеров ЭД (ФВ, NO) и ПрС, у пациентов с ОААНК до и после открытых вмешательств.

Значения активности факторов внутреннего каскада свертывания и гемостатических маркеров ДЭ до и через 3 месяца после открытого вмешательства представлены в таблице 9 и на рис. 12.

Таблица 9

Количественные значения активности показателей факторов внутреннего каскада коагуляции и гемостатических маркеров дисфункции эндотелия у пациентов группы А

Показатели		ПрС (%)	ФВ (%)	VIII фактор (%)	IX фактор (%)	XI фактор (%)	NO (мкМ/мл)
Норма		70-130	70-150	70 -150	70-150	70-130	72-80
Значения до операции	Медиана	92	600	175	222	189	60
	Нижняя-Квартиль	85	300	145	151	141	37
	Верхняя-Квартиль	100	1200	226	275	270	81
Значения через 3 месяца после операции	Медиана	90	1200	233*	246	208	43*
	Нижняя-Квартиль	83	300	179	158	118	34
	Верхняя-Квартиль	96	1200	294	284	287	67.7

Примечание: ФВ – фактор Виллебранда, ПрС – протеин С, NO – метаболиты оксида азота (II)

Из представленных данных таблицы 9 и на рис. 12 мы видим исходное увеличение активности ФВ в 4 раза по сравнению с нормой. Повышение активности VIII, IX, XI факторов при нормальном уровне ПрС и сниженном NO.

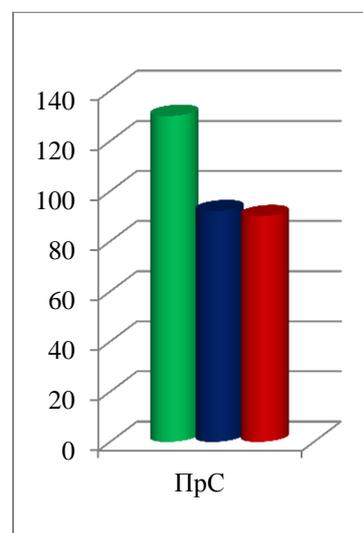
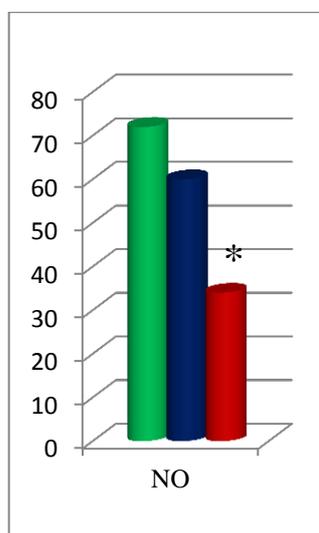
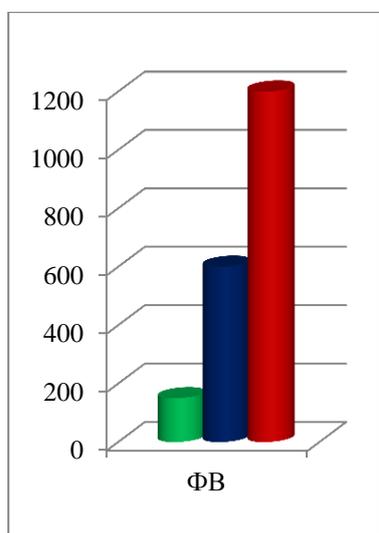
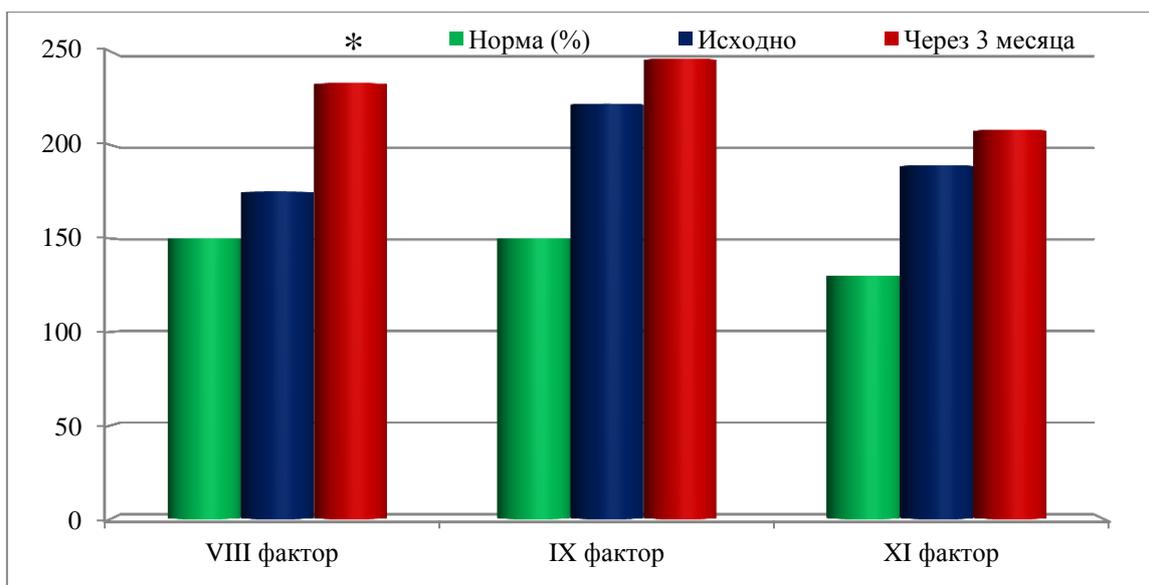


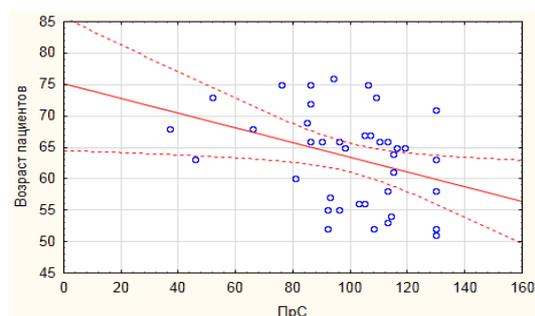
Рис. 12 Динамика изменений VIII, IX, XI факторов ПрС, ФВ, NO до и через 3 месяца после оперативного вмешательства

Примечание: * - значимое отличие показателей между группами ($p < 0.05$), ФВ – фактор Виллебранда, ПрС – протеин С, NO – метаболиты оксида азота (II).

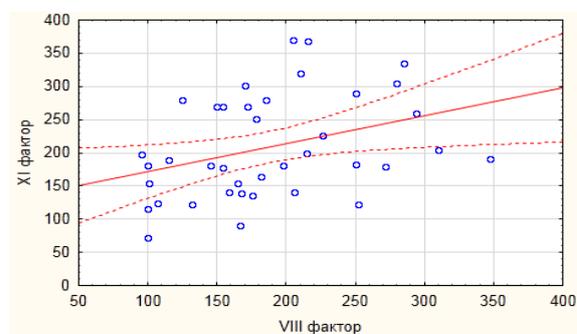
Через 3 месяца после оперативного вмешательства прослеживается дальнейшее увеличение активности ФВ, VIII, IX и XI факторов на фоне снижения NO и ПрС. Прирост для ФВ составил 100%, для VIII фактора 24.8%, для IX фактора 9.8%, XI фактора 10.1%, NO снизился на 40%, ПрС 2%. Статистически значимые изменения были получены только для VIII

фактора ($p=0.0002$), NO ($p=0.012$). В послеоперационном периоде пациенты получали НФГ под контролем АЧТВ совместно с антиагрегантным препаратом (препараты ацетилсалициловой кислоты) 3-5 дней, затем с переходом на двойную антиагрегантную терапию (препараты ацетилсалициловой кислоты и клопидогрел).

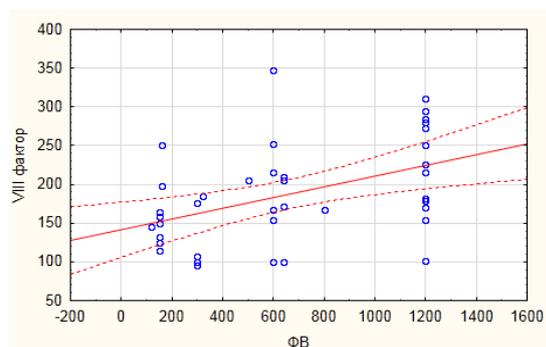
По результатам проведенного исследования выявлены корреляционные связи между активностью исследуемых показателей. До операции определялась средняя корреляция между активностью ПрС и возрастом пациентов ($r=-0.396$), VIII и XI факторов ($r=+0.418$), IX и XI факторов ($r=+0.517$), ФВ и VIII факторов ($r=+0.483$, рис. 13).



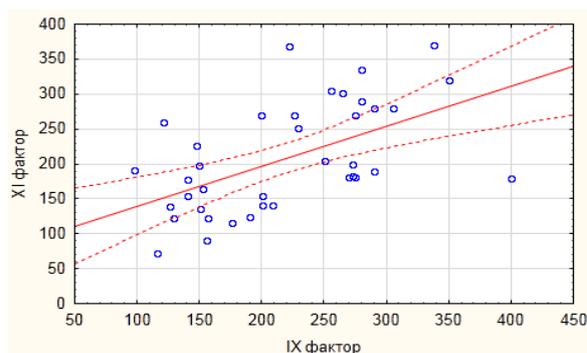
$$r=-0.396$$



$$r=+0.418$$



$$r=+0.483$$



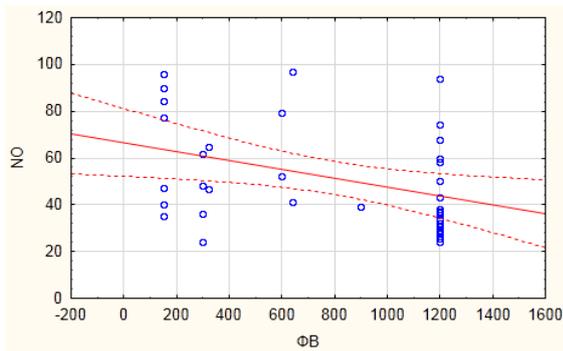
$$r=+0.517$$

Рис. 13 Корреляционный анализ: r – коэффициент корреляции.

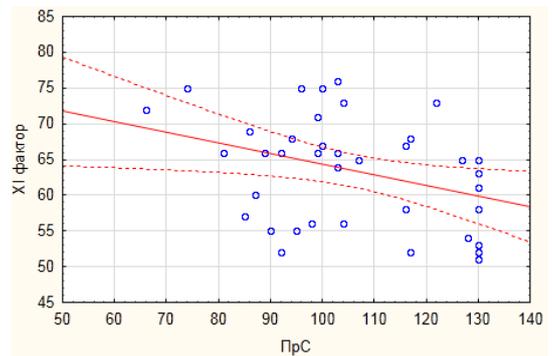
Взаимосвязи между ФВ, VIII, IX, XI факторами внутреннего каскада коагуляции, ПрС и возрастом пациентов до операции

Примечание: ФВ - фактор Виллебранда, ПрС – протеин С

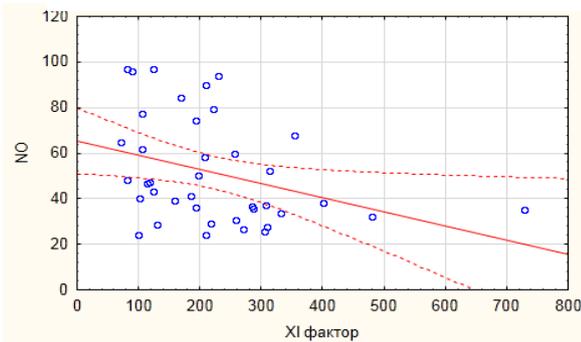
Через 3 месяца после операции определялась средняя корреляция между ПрС и XI фактором ($r=-0.343$), ФВ и NO ($r=-0.395$), XI фактором и NO ($r=-0.387$), VIII фактором и NO ($r=-0.413$), VIII и IX факторами ($r=+0.530$), ФВ и VIII фактором ($r=+0.698$), ФВ и IX фактором ($r=+0.508$), ФВ и XI фактором ($r=+0.558$), VIII и XI факторами ($r=+0.733$), IX и XI факторами ($r=+0.645$, рис. 14).



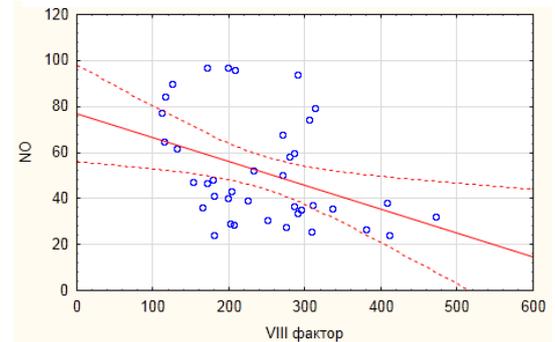
$$r=-0.395$$



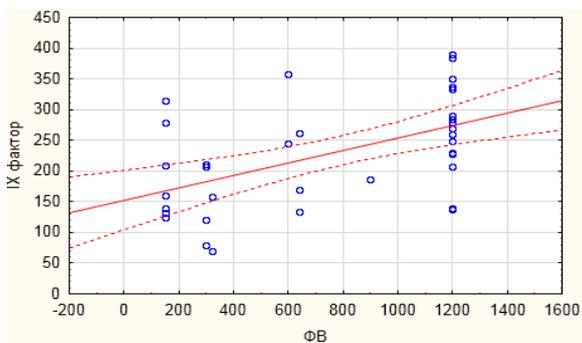
$$r=-0.343$$



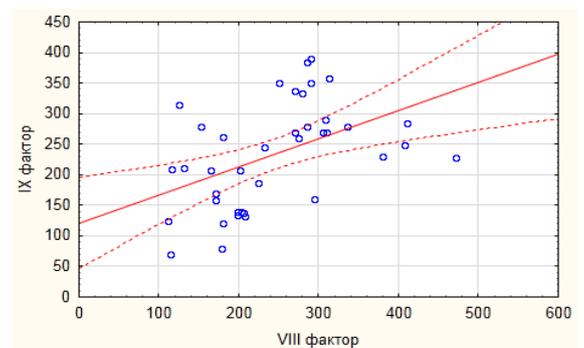
$$r=-0.387$$



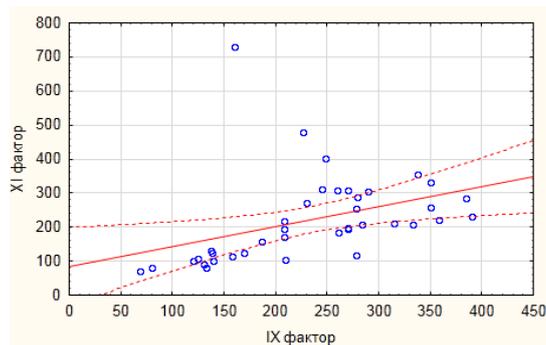
$$r=-0.413$$



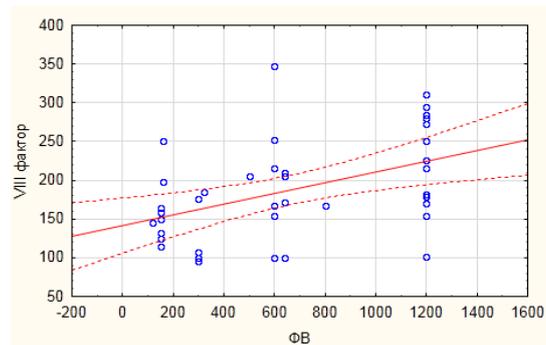
$$r=+0.508$$



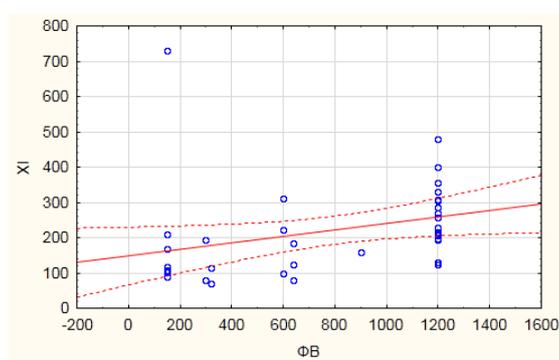
$$r=+0.530$$



$$r=+0.645$$



$$r=+0.698$$



$$r=+0.558$$

Рис. 14 Корреляционный анализ: r – коэффициент корреляции.

Взаимосвязи между ФВ, VIII, IX, XI факторами внутреннего каскада коагуляции, ПрС и метаболитами оксида азота (II) через 3 месяца после оперативного вмешательства

Примечание: ФВ – фактор Виллебранда, ПрС – протеин С

Выявленные новые корреляционные связи между ПрС и XI объясняются тем, что XI фактор активирует TAFI, уменьшая фибринолитическую активность. В свою очередь нейтрализация ПАИ-1 с помощью ПрС увеличивает фибринолитический потенциал.

При травме сосудистой стенки во время оперативного вмешательства происходит обнажение субэндотелия. При контакте с коллагеном субэндотелия поврежденного сосуда тромбоциты адгезируют к нему через

ФВ, образуя однослойную выстилку. Поверхность тромбоцитов изменяется, происходит высвобождение веществ из содержащихся в них гранулах.

Известно, что в альфа-гранулах тромбоцитов содержатся факторы, участвующие в процессах гемокоагуляции (антигепариновый фактор, β -тромбоглобулин (ингибитор синтеза простациклина эндотелиоцитами), ПАИ-1, ФВ, акцелератор-глобулин (аналог фактора V плазмы), XI, XIII, тромбоцитарный фактор роста. Таким образом, на фоне снижения NO в результате ЭД и на фоне операционной травмы, мы наблюдаем повышение уровня XI фактора за счет активации тромбоцитов, как дополнительный источник [2]. Обратные связи NO с ФВ, XI и VIII факторами при прямых связях ФВ с VIII, IX и XI факторами показывают, что на фоне нарушения функционального состояния эндотелия происходит активация двух звеньев гемостаза – тромбоцитарного и коагуляционного.

У 5 (12.5 %) пациентов группы А по данным УЗДС артерий нижних конечностей через 12 месяцев выявлено прогрессирование атеросклеротического поражения артерий нижних конечностей. У данных пациентов кровообращение в нижних конечностях было компенсировано, и необходимости в повторных оперативных вмешательствах не возникло. До операции у данных пациентов была повышена активность ФВ, VIII, IX, XI факторов, при сниженном уровне NO и нормальном значении ПрС. Статистически достоверных изменений получено не было. Через 3 месяца наблюдается тенденция к росту активности ФВ, факторов внутреннего каскада, при дальнейшем снижении NO и ПрС. Статистически значимые различия были получены для ФВ ($p=0.027$) и NO ($p=0.014$, рис. 15).

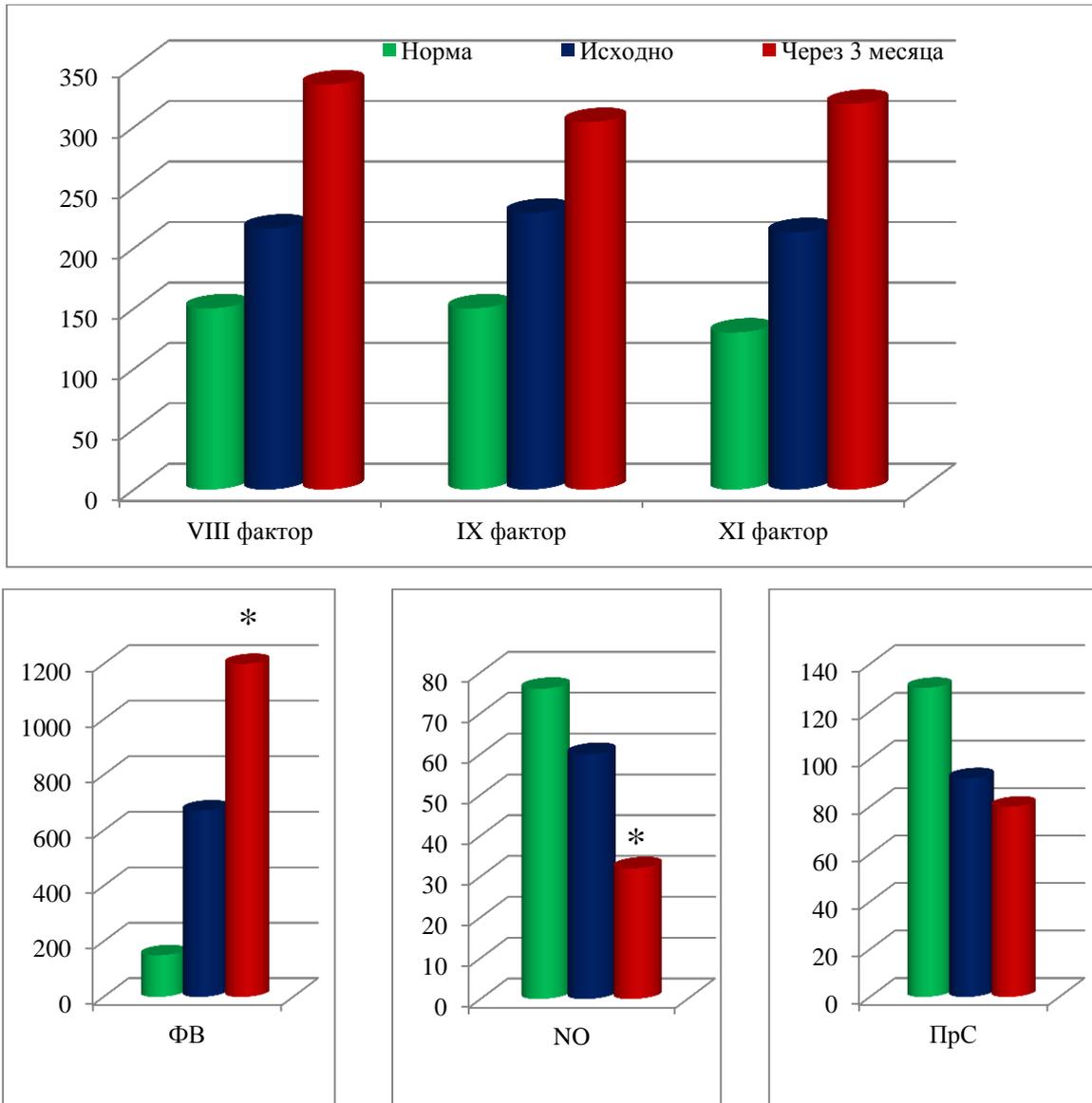


Рис. 15 Основные тенденции изменения показателей ФВ, VIII, IX, XI факторов, ПрС и NO у пациента с прогрессированием атеросклероза артерий нижних конечностей

Примечание: * - значимое отличие показателей между группами ($p < 0.05$), ФВ – фактор Виллебранда, ПрС – протеин С, NO – метаболиты оксида азота (II)

По результатам многочисленных исследований было доказано участие дисфункции эндотелия в прогрессировании атеросклеротического процесса. Дефицит NO приводит к усилению процессов адгезии к поверхности эндотелия, диффузий в субэндотелиальное пространство моноцитов,

активации тромбоцитов, активации процессов коагуляции и пролиферации гладкомышечных клеток [53]. Евдокименко А.Н. (2016) обнаружили прямую зависимость между количеством ФВ в эндотелии и объемом атероматоза в бляшке каротидного синуса и степенью инфильтрации покрышки моноцитами и макрофагами. Продемонстрирована высокая корреляция между экспрессией ФВ и выраженностью деструктивных процессов и воспалительных реакций в атеросклеротической бляшке, что подтверждает высокую значимость данного маркера в отражении активности течения атеросклероза каротидного синуса [19]. Methia N. и др. (2001) было высказано предположение, что ФВ играет важную роль в патогенезе атеросклероза. Недавние исследования подчеркнули важность тромбоцитов и ФВ в инициации формирования атеросклеротической бляшки. У кроликов, страдающих гиперлипидемией и мышей с моделью атеросклероза, адгезия тромбоцитов предшествовала образованию атеросклеротической бляшки. Этот процесс нуждается в активации эндотелиальных клеток, но не в фактическом обнажении эндотелия, и тормозится инактивацией ФВ или его рецептора (GPIb). Инактивация ФВ и ингибирование GP1b задерживают образование жировых полос [152].

У 6 (15%) пациентов в раннем послеоперационном периоде имел место тромбоз зоны реконструкции, подтвержденный данными УЗДС артерий нижних конечностей. Причинами данного осложнения явилась интраоперационная переоценка периферического русла при первичной реконструкции. Повторные реконструктивные вмешательства были неэффективными, ишемия конечности прогрессировала и пациентам выполнена высокая ампутация конечности на уровне бедра. У данных пациентов были исходно повышены уровни ФВ, VIII, IX, XI фактора, при нормальном уровне ПрС и сниженном NO при сравнении со здоровыми добровольцами. Статистически значимое отличие было получено только для VIII фактора ($p=0.01$). Через 3 месяца после операции наблюдался дальнейший рост активности ФВ, сохранялся повышенный уровень VIII, IX,

XI факторов, при дальнейшем снижении NO. Статистических различий получено не было (рис. 16). Мы предполагаем, что повышенный уровень гемостатических маркеров способствовал более раннему возникновению тромботических осложнений и более тяжелому течению послеоперационного периода.

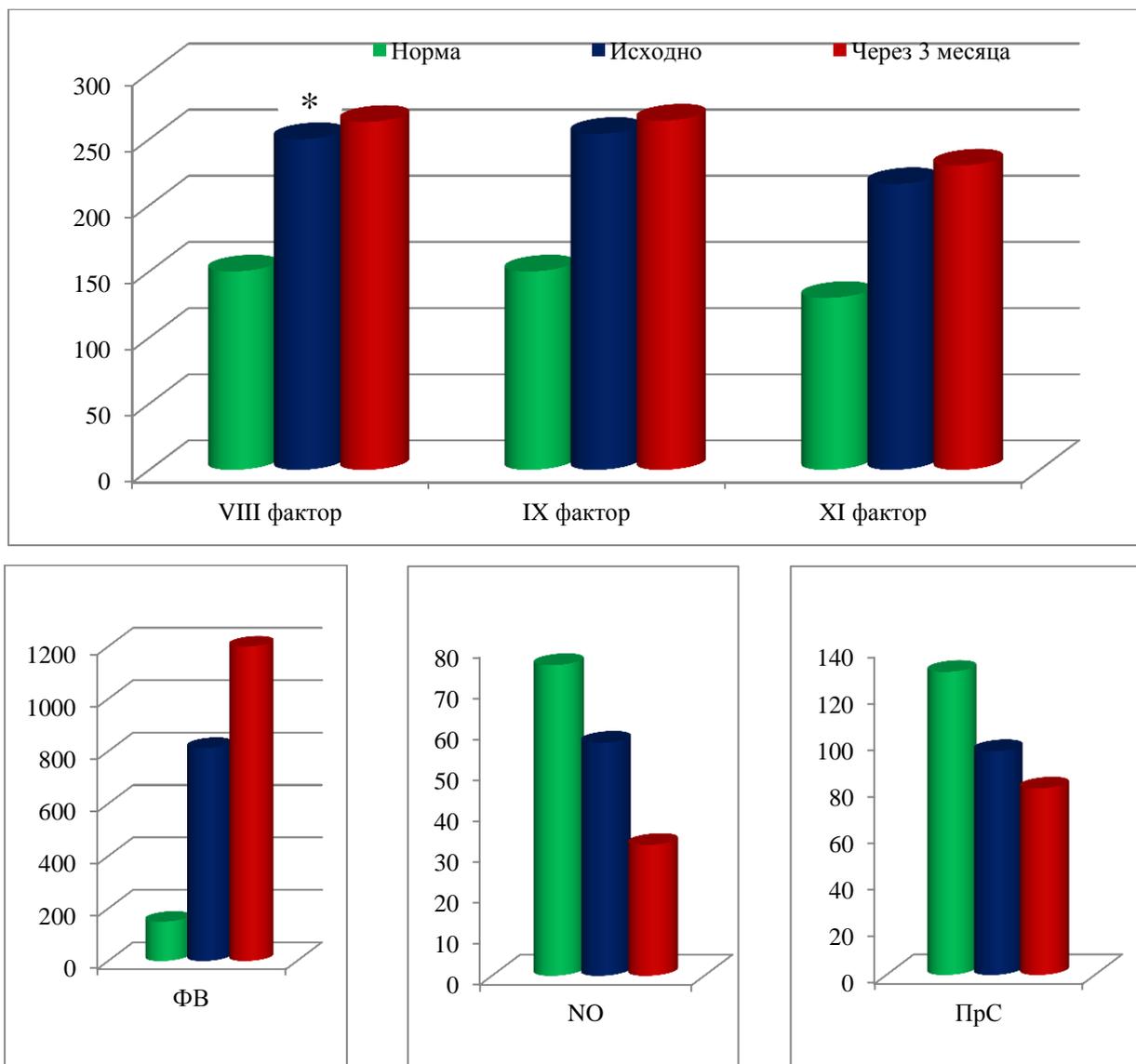


Рис. 16 Основные тенденции изменения показателей ФВ, VIII, IX, XI факторов, PrC и NO у пациента с тромбозом зоны реконструкции

Примечание: ФВ – фактор Виллебранда, PrC – протеин С, NO – метаболиты оксида азота (II)

Heikal N.M. (2013) в своем исследовании показал, что каждое увеличение активности IX фактора на 1% увеличивает риск артериального тромбоза на 3% [114]. Małecki R. и др. показали, что повышенный уровень

VIII фактора может быть причиной 5% всех случаев артериальных тромбозов [149]. Bank I. и др. показал, что у 40% родственников пациентов с повышенным уровнем VIII фактора также отмечается его повышение, а риск ИМ и тромбоза периферических артерий повышен в 4-8 раза [74].

3.4 Сравнительный анализ показателей внутреннего каскада коагуляции и гемостатических маркеров дисфункции эндотелия у пациентов исследуемых групп

В исследования было включено 120 пациентов со IIБ-III стадией заболевания по классификации А.В. Покровского-Фонтейна. Все пациенты были разделены на 3 группы:

Группа А: 40 пациентов, которым выполнены открытые оперативным вмешательством на артерий аорто-бедренного и бедренно-подколенного сегмента.

Группа В: 40 пациентов, которым выполнены эндоваскулярные вмешательства на артерий аорто-бедренного и бедренно-подколенного сегмента.

Группа С: 40 пациентов (группа контроля), которые проходили консервативное лечение.

При сравнении исходных показателей активности VIII, IX, XI факторов, ФВ, ПрС и NO статистически достоверных различий между группами А и В получено не было (рис. 17).

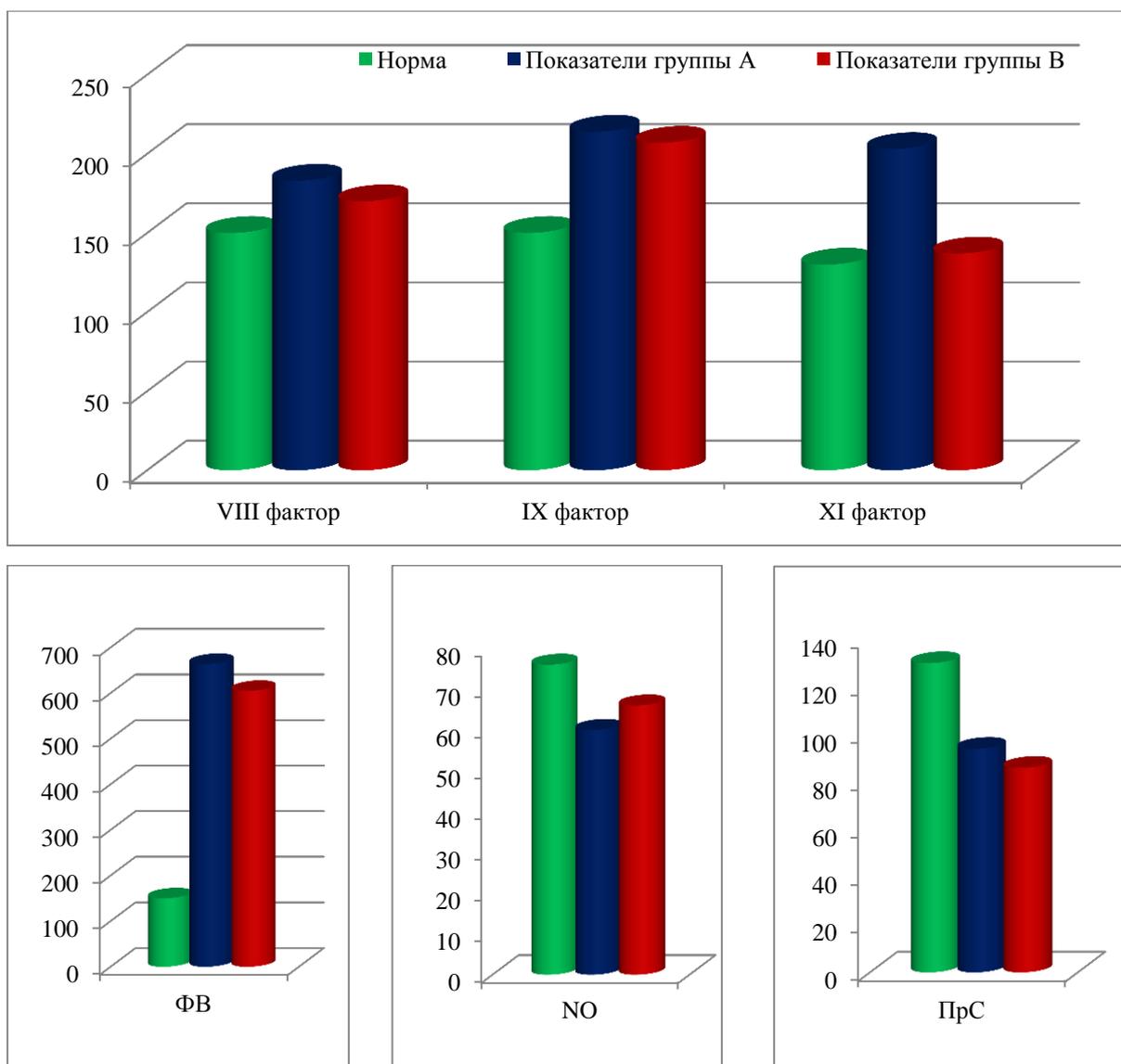


Рис. 17 Сравнительный анализ исходных показателей ФВ, VIII, IX, XI факторов, PrC и NO у пациентов групп А и В

Примечание: ФВ – фактор Виллебранда, PrC – протеин С, NO – метаболиты оксида азота (II)

Группы А и В были сопоставимы как по возрастному, гендерному составу, по клинико-лабораторным показателям, так и по основному заболеванию. У 29 (72.5%) пациентов группы А была III стадия заболевания по классификации А.В. Покровского-Фонтейна и у 27 (67.5%) пациентов группы В, соответственно (рис. 18).

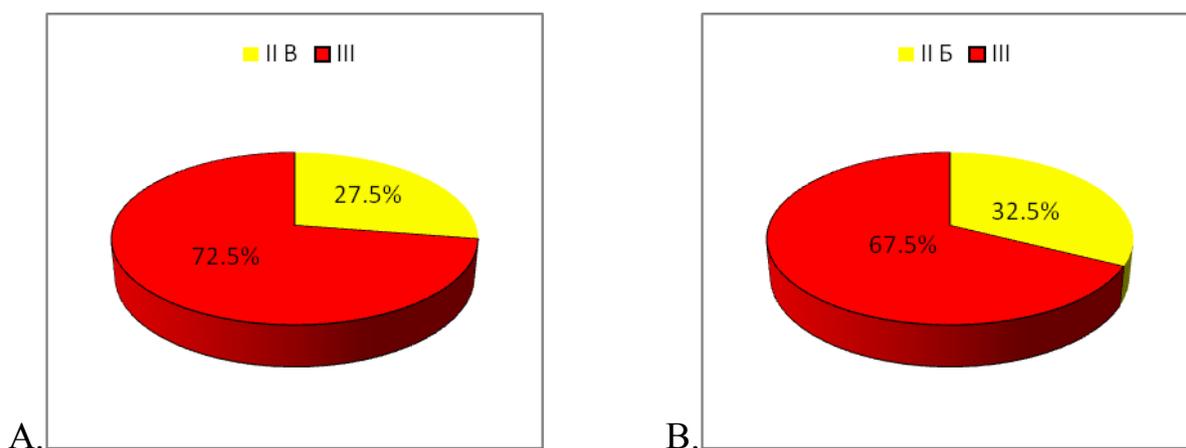


Рис. 18 Распределение пациентов групп А и В по стадиям заболевания

После оперативных вмешательств через 3 месяца мы также не выявили статистических различий в показателях внутреннего каскада и гемостатических маркеров дисфункции эндотелия групп А и В.

Динамика исследуемых показателей в группах А и В идентична. Исходно была повышена активность ФВ, VIII, IX, XI факторов при сниженном уровне NO и нормальном уровне ПрС. Через 3 месяца после операции происходило дальнейшее повышение активности ФВ, VIII, IX, XI факторов на фоне снижения уровня NO и ПрС. В послеоперационном периоде пациенты получали НФГ под контролем АЧТВ и антиагрегантный препарат (клопидогрел) в течение 3-5 дней с последующим переходом на двойную антиагрегантную терапию (клопидогрел и препараты ацетилсалициловой кислоты). Несмотря на данную терапию, показатели внутреннего каскада коагуляции и ФВ были повышены. Возможно, необходим поиск других алгоритмов антитромботической терапии в послеоперационном периоде у пациентов с ОААНК для профилактики осложнений.

Таким образом, изучение исходного состояния системы гемостаза у пациентов с ОААНК с III стадией заболевания позволяет сделать вывод о наличии выраженных изменений: развитии гиперкоагуляционного состояния на фоне нормального антикоагуляционного потенциала. Оперативное вмешательство обеспечивает еще больший сдвиг в сторону гиперкоагуляции и нарушение функционального состояния эндотелия.

При комплексном анализе изменений показателей гемостаза в крови пациентов после эндоваскулярных операций по степени выраженности не уступают классическим открытым артериальным реконструкциям, а по тенденциям сходны с последними.

При сравнении показателей группы А с группой С достоверно значимыми были различия были получены для ПрС ($p=0.0016$), ФВ ($p=0.001$), VIII фактора ($p=0.0002$), IX фактора ($p=0.045$), XI фактора ($p=0.000002$), NO ($p=0.028$, рис. 19).

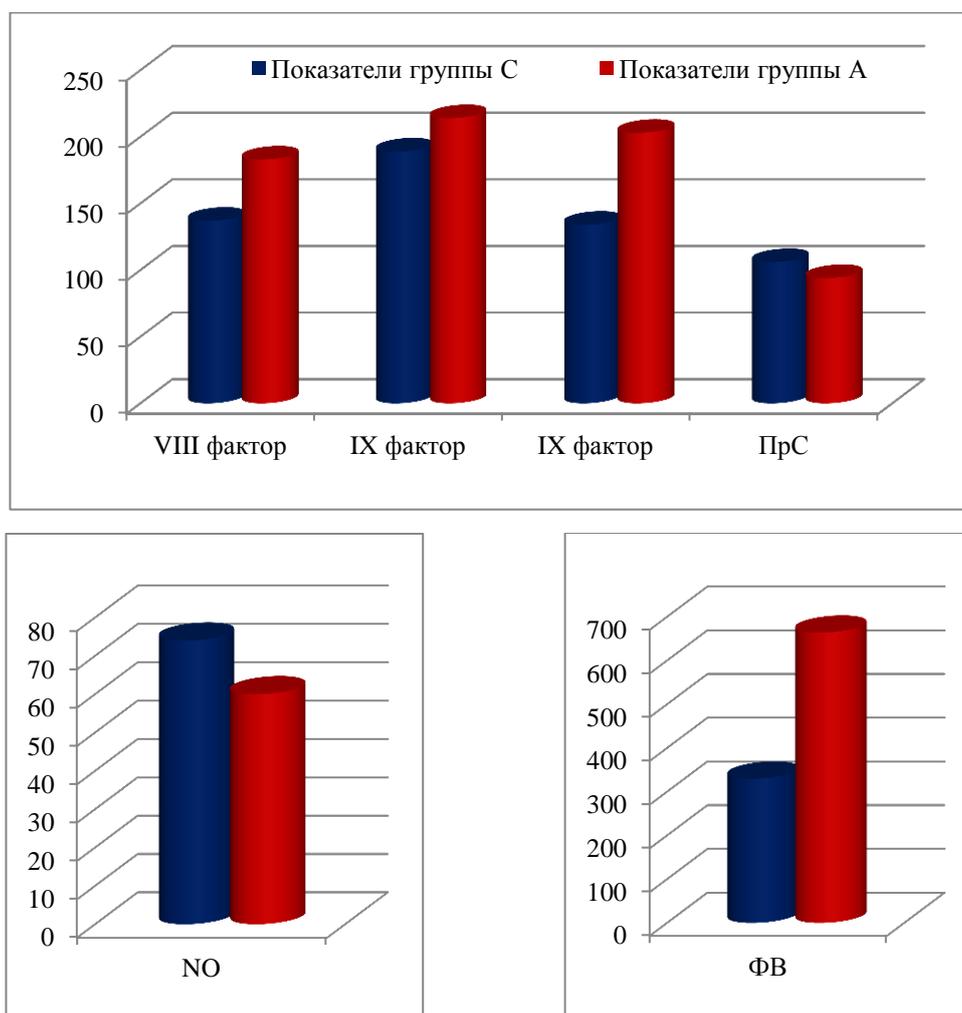


Рис. 19 Сравнительный анализ показателей ФВ, VIII, IX, XI факторов, ПрС и NO у пациентов групп А и С

Примечание: * - значимое отличие показателей между группами ($p<0.05$), ФВ – фактор Виллебранда, ПрС – протеин С, NO – метаболиты оксида азота (II)

В сравнении показателей группы В с показателями группы С

статистически значимые различия получены для ФВ ($p=0.006$), VIII фактора ($p=0.01$), NO ($p=0.046$) (рис. 20).

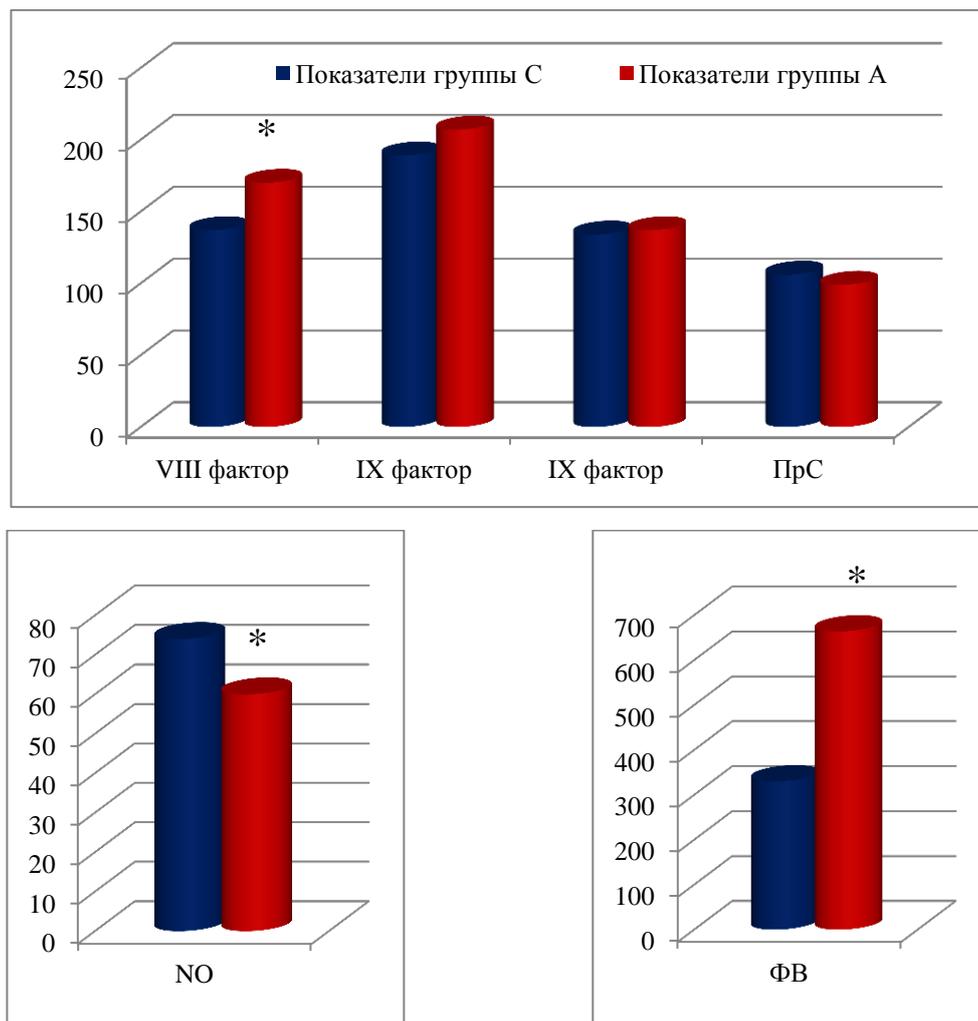


Рис. 20 Сравнительный анализ показателей ФВ, VIII, IX, XI факторов, ПрС и NO у пациентов групп В и С

Примечание: * - значимое отличие показателей между группами ($p < 0.05$)
 ФВ – фактор Виллебранда, ПрС – протеин С, NO – метаболиты оксида азота (II)

Более высокие показатели ФВ, VIII, IX, XI факторов и пониженные NO пациентов групп А и В связаны с преобладанием пациентов с III стадией заболевания по классификации А.В. Покровского–Фонтейна (72.5% и 67.5%, соответственно), у пациентов группы С II стадия заболевания (80%).

Пшеников А.С. (2011) в своем исследовании отметил, что пациенты на ранних стадиях заболевания ОААНК имеют более выраженный

функциональный резерв эндотелия артерий. При IIА стадии концентрация метаболитов NO в крови была выше, чем при IIБ стадии заболевания.

Клинический пример №1

Больной А., 1954 г.р. поступил в ОСХ РОККД (история болезни №1094) 06.02.2017 года с диагнозом облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей. Подвздошно-бедренная окклюзия справа, III стадия заболевания. Диагноз подтвержден при ангиографическом исследовании (рис. 21). ЛПИ 0.27 справа / 1.0 слева.

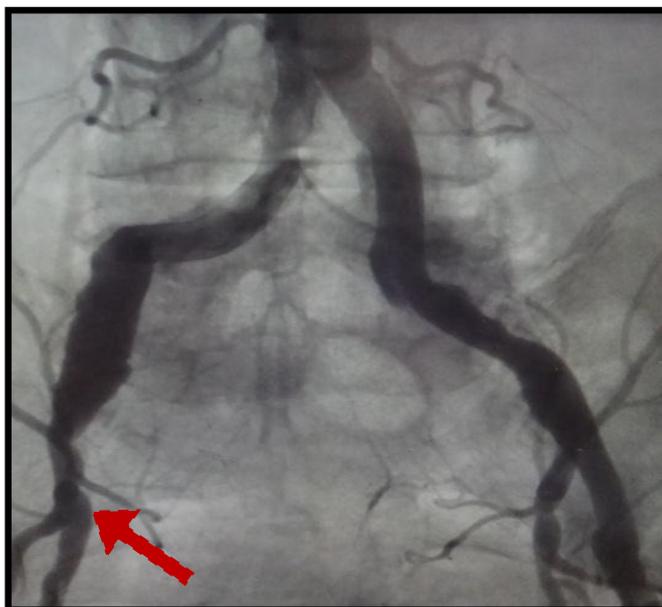


Рис. 21 Аортоартериография. Окклюзия наружной подвздошной артерии
справа

10.02.2017 Оперативное вмешательство: реканализация, ТЛБАП, эндопротезирование правой наружной подвздошной артерии с переходом на общую бедренную артерию (рис. 22). Послеоперационный период без осложнений.

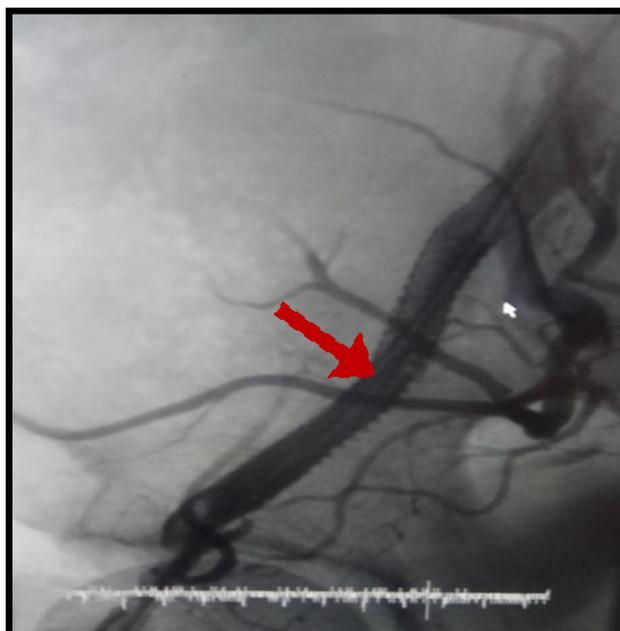


Рис. 22 Реканализация, ТЛБАП и эндопротезирование правой наружной подвздошной артерии с переходом на ОБА

Выписан в удовлетворительном состоянии, пульс периферический на обеих нижних конечностях. ЛПИ 1.0 справа / 1.0 слева. УЗДС - контроль области реконструкции проведен через 12 месяцев - зона стента проходима, без гемодинамически значимого стеноза (рис. 23).

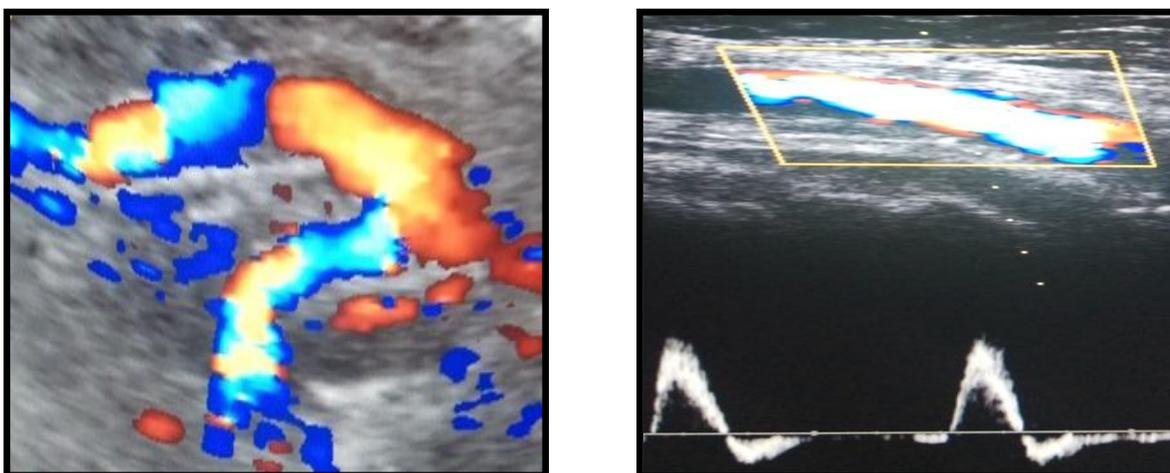


Рис. 23 Ультразвуковой дуплексный - контроль через 12 месяцев зоны реконструкции

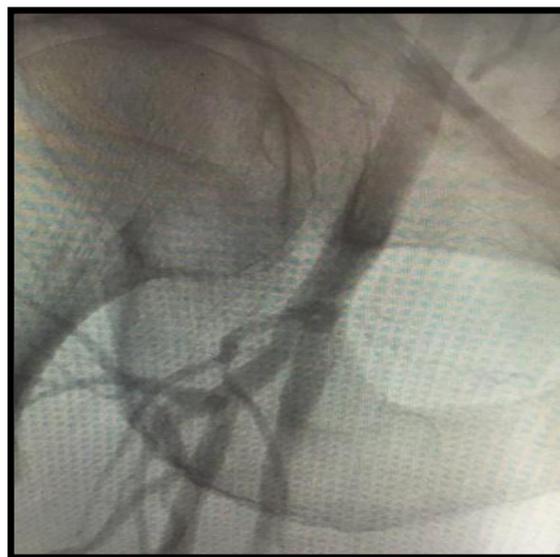
У пациента А. показатели внутреннего каскада коагуляции и гемостатические маркеры ЭД находились в пределах нормы как до, так и через 3 месяца после операции, таблица 10.

Лабораторные показатели факторов внутреннего каскада коагуляции и гемостатических маркеров дисфункции эндотелия у пациента А

Показатели	ФВ (%)	VIII фактор (%)	IX фактор (%)	XI фактор (%)	ПрС (%)	NO (мкМ /мл)
Норма	70-150	70-150	70 -150	70-130	70-130	72-80
Исходные значения	150	130	142	125	110	78
Значения через 3 месяца после операции	300	145	153	126	100	70

Клинический пример №2

Больной И., 1956г.р. поступил в ОСХ РОККД (история болезни № 4036) 02.05.2017 года с диагнозом облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей. Бедренная – подколенная окклюзия справа, III стадия заболевания. Диагноз подтвержден при ангиографическом исследовании (рис. 24). ЛПИ 0.14 справа / 1.07 слева.



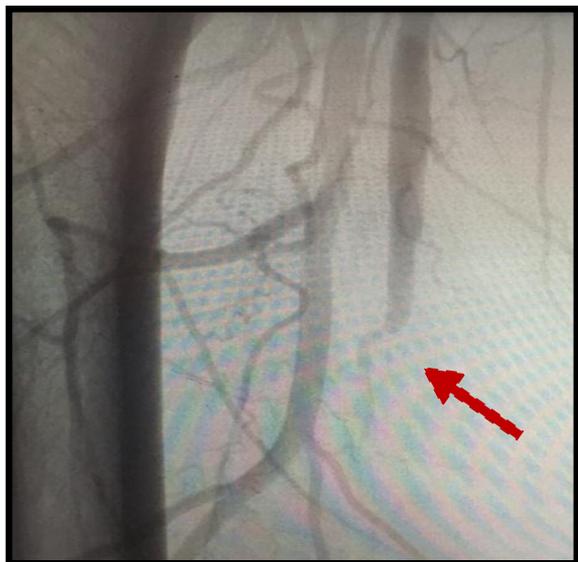


Рис. 24 Аортоартериография. Окклюзия собственной бедренной
артерии в средней трети справа

10.05.2017 было выполнено бедренно - подколенное протезирование выше щели коленного сустава справа аллопротезом $d=8\text{мм}$. Послеоперационный период без осложнений.

Выписан в удовлетворительном состоянии, пульс периферический на обеих нижних конечностях. ЛПИ 0.98 справа / 1.0 слева. УЗДС - контроль области реконструкции проведен через 12 месяцев – в подколенной артерии определяется атеросклеротическая бляшка, стенозирующая просвет на 60%

(рис. 25). ЛПИ 0.7 справа / 0.9 слева. На момент осмотра кровообращение в нижних конечностях компенсировано. Пульс справа на подколенной артерии, слева периферический. Дистанция безболевого ходьбы более 200 метров. От реконструктивно-восстановительного вмешательства решено было воздержаться.

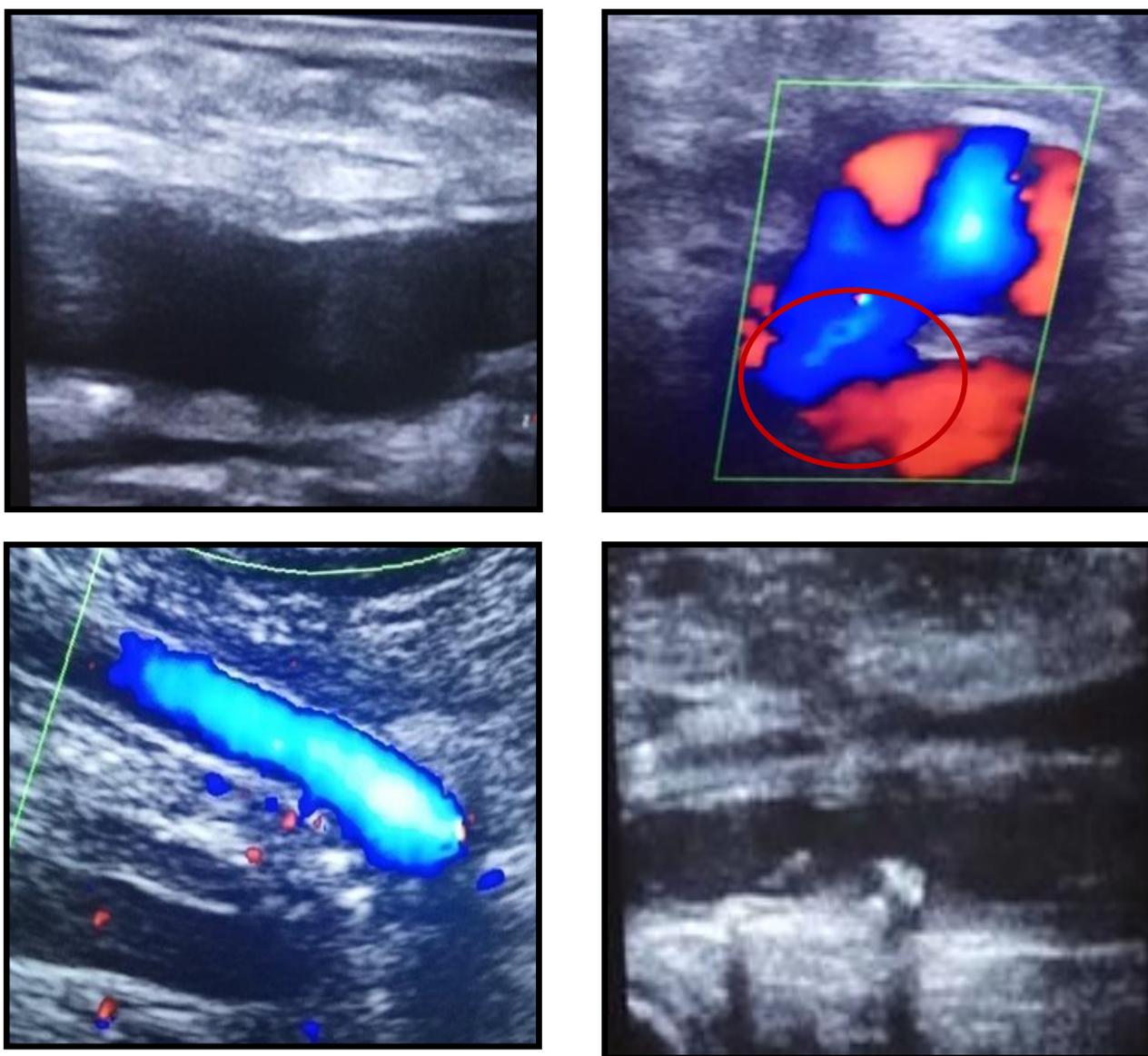


Рис. 25 Ультразвуковое дуплексное сканирование артерий правой нижней конечности через 12 месяц пациента И.

У пациента И. исходно была повышена активность ФВ, VIII, IX, XI факторов при нормальном уровне ПрС и сниженном NO. Через 3 месяца происходит дальнейшее повышение активности ФВ, VIII, IX, XI факторов

при дальнейшем снижении NO. ПрС находился в пределах нормы, таблица 11.

Таблица 11

Лабораторные показатели факторов внутреннего каскада коагуляции и гемостатических маркеров дисфункции эндотелия у пациента И

Показатели	ФВ (%)	VIII фактор (%)	IX фактор (%)	XI фактор (%)	ПрС (%)	NO (мкМ/мл)
Норма	70-150	70-150	70 -150	70-130	70-130	72-80
Исходные значения	672	216	229	212	97	62
Значения через 3 месяца после операции	1200	335	303	318	85	32

Клинический пример №3.

Больной Д., 1961 г.р. поступил в ОСХ РОККД (история болезни № 2107) 07.04.2017 года с диагнозом облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей. Бедренная - подколенная окклюзия справа, III стадия заболевания. Диагноз подтвержден при ангиографическом исследовании (рис. 30). ЛПИ 0.3 справа / 0.93 слева.



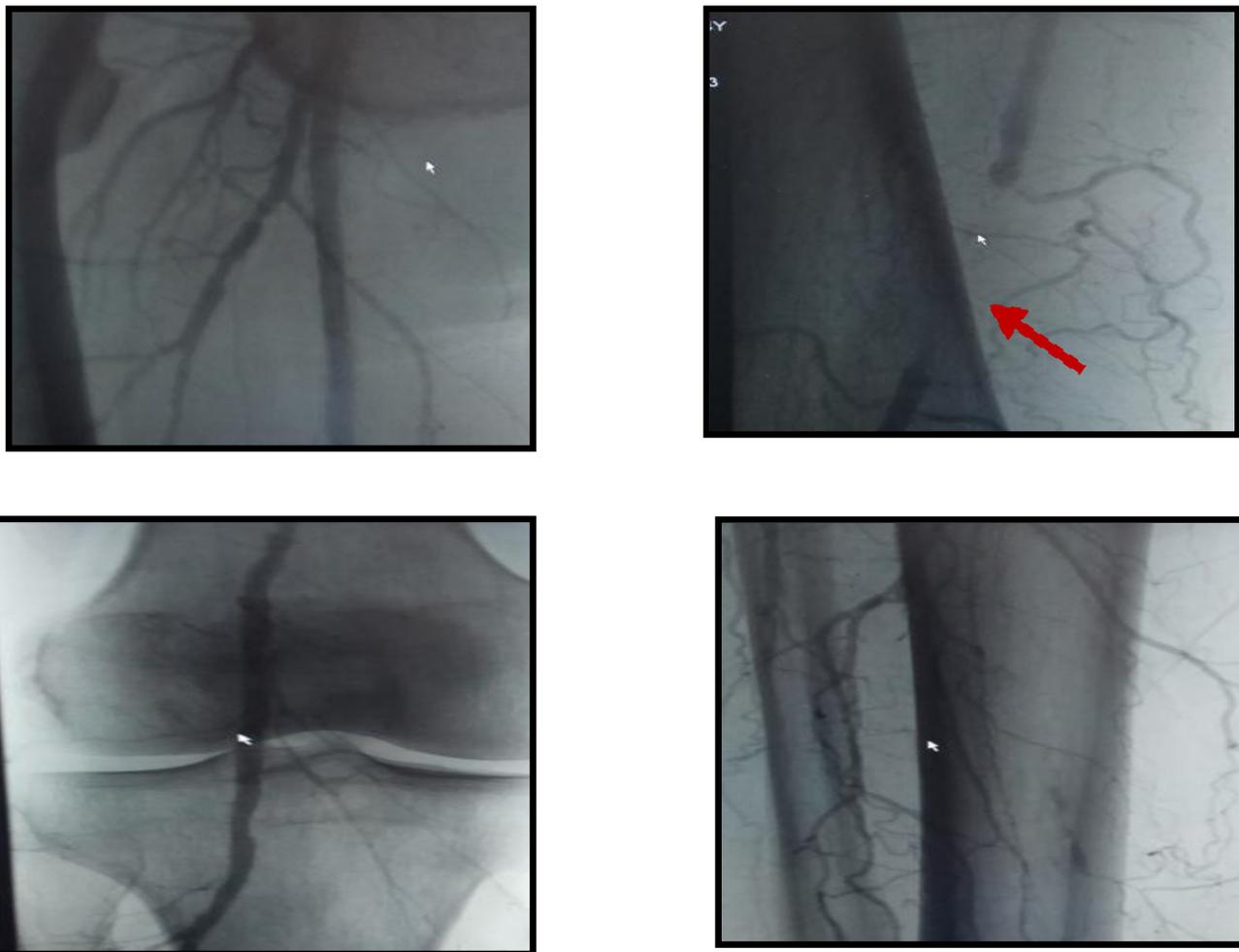


Рис. 26 Аортоартериография. Окклюзия собственно бедренной артерии в нижней трети 4 см

10.04.2017 ТЛБАП собственной бедренной артерии справа (рис. 27). Выписан в удовлетворительном состоянии, пульс справа на подколенной артерии, слева периферический. ЛПИ 0.68 справа / 0.9 слева.

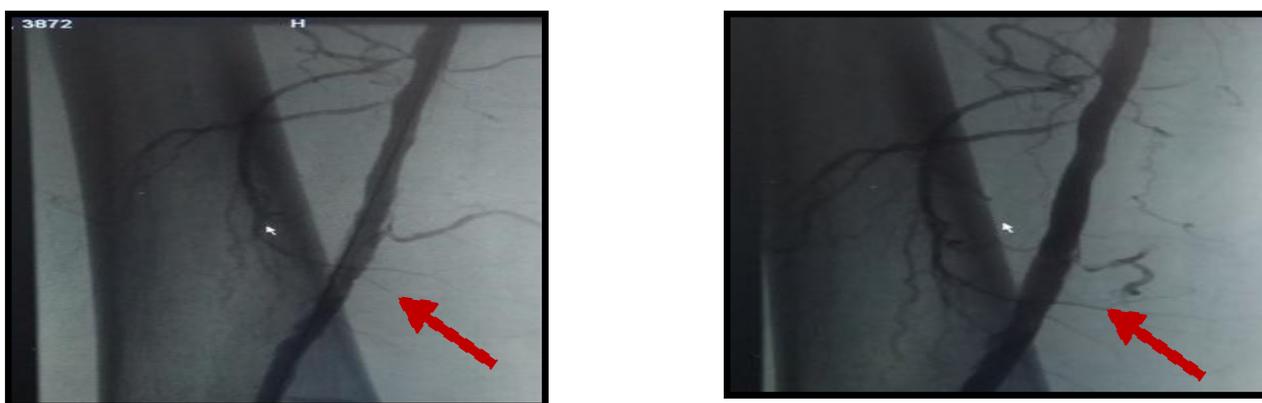


Рис. 27 ТЛБАП собственной бедренной артерии справа

Через 6 месяцев у пациента повторно возник болевой синдром в правой нижней конечности при ходьбе до 100 метров. ЛПИ снизился до значений 0.42 справа / 0.8 слева. Была выполнена аортоартериография нижних конечностей, на которой выявлен рестеноз собственной бедренной артерии до 90 % (рис. 28). Пациенту повторно была выполнена ТЛБАП собственной бедренной артерии (рис. 29). Послеоперационный период без осложнений. Кровообращение в нижних конечностях компенсировано. Пульс на подколенной артерии справа, слева периферический. ЛПИ 0.7 справа / 0.9 слева.

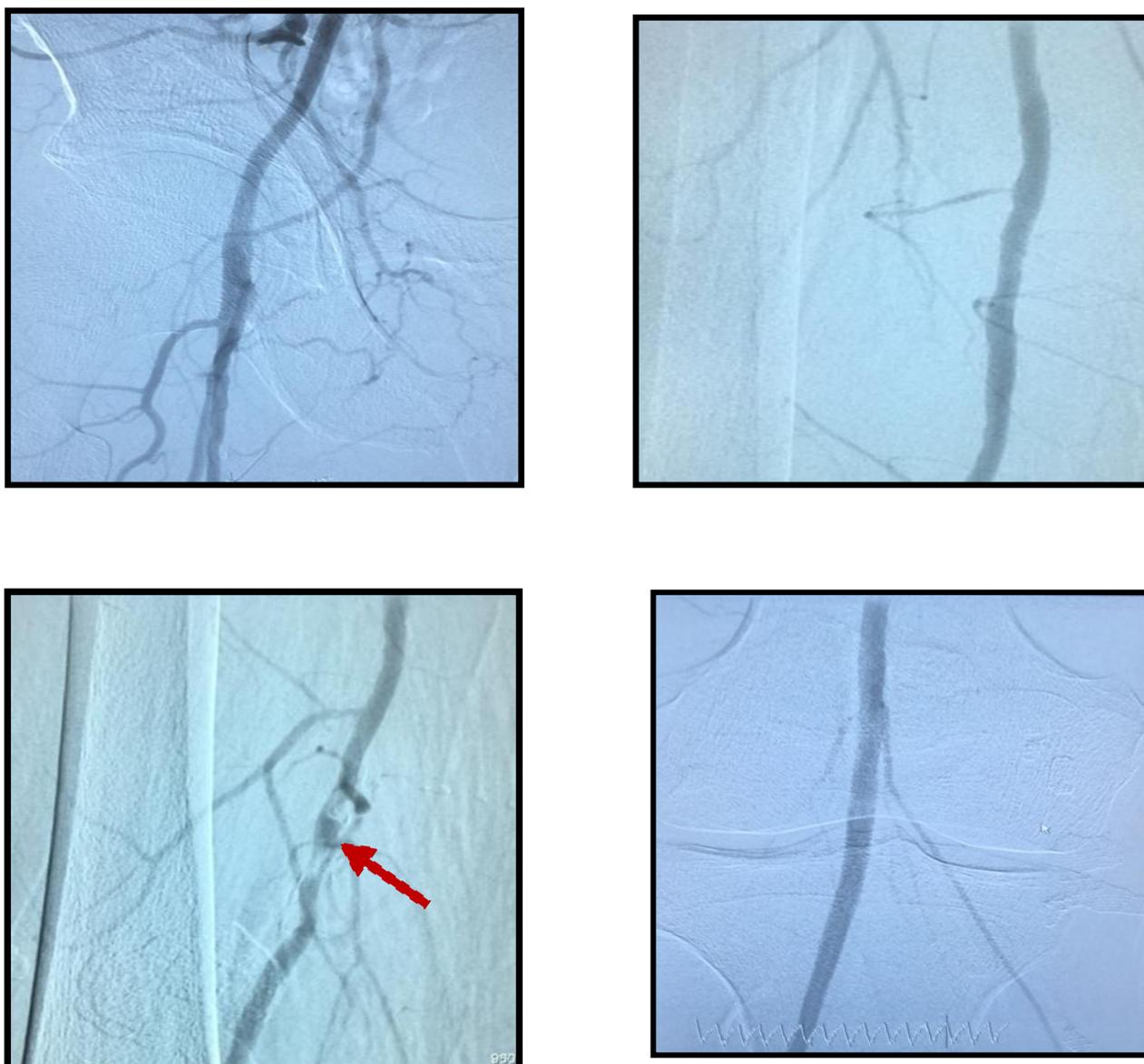


Рис. 28 Аортоангиография через 6 месяцев пациента М. Выявлен рестеноз собственной бедренной артерии 90%

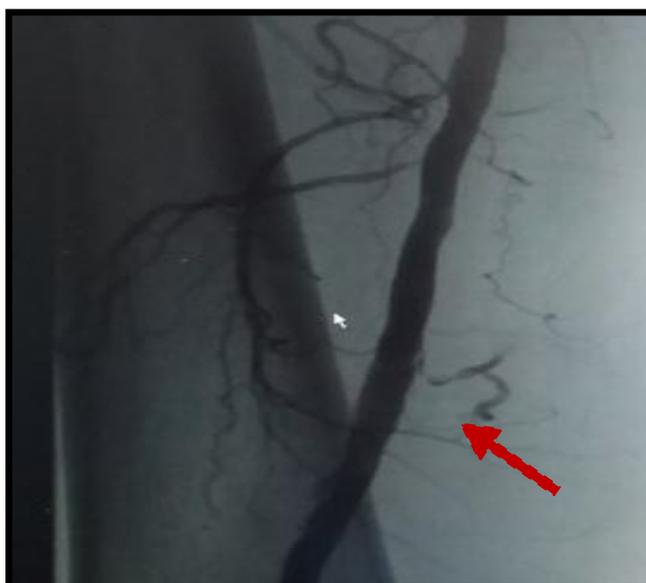


Рис. 29 Повторная ТЛБАП собственно бедренной артерии справа

У пациента Д. исходно была повышена активность ФВ, VIII, IX, XI факторов при нормальном уровне ПрС и сниженном уровне NO. Через 3 месяца после эндоваскулярного вмешательства произошло дальнейшее повышение значений ФВ, VIII, IX, XI факторов при снижении NO, таблица 12.

Таблица 12

Лабораторные показатели факторов внутреннего каскада коагуляции и гемостатических маркеров дисфункции эндотелия у пациента М

Показатели	ФВ (%)	VIII фактор (%)	IX фактор (%)	XI фактор (%)	ПрС (%)	NO (мкМ/мл)
Норма	70-150	70-150	70 -150	70-150	70-130	72-80
Исходные значения	300	190	185	192	95	58
Значения через 3 месяца после операции	1200	190	200	213	83	32

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проблема послеоперационных тромботических осложнений в сосудистой хирургии остается нерешенной. Ведущими причинами развития тромботических осложнений в послеоперационном периоде являются: технические погрешности, рестенозы зоны реконструкции, прогрессирование заболевания. На сегодняшний день влияние факторов внутреннего каскада свертывания и гемостатических маркеров дисфункции на развитие данных осложнений до конца не изучено. Поэтому изучение функционального состояния эндотелия, его маркеров и факторов внутреннего пути свертывания у пациентов с ОААНК, а также их динамика до и после хирургического лечения и их влияние на развитие послеоперационных осложнений весьма актуально.

С учетом вышеизложенного были определены цель, задачи и дизайн настоящего исследования. Работа выполнена в рамках гранта Европейского общества сосудистых хирургов — European Society for Vascular Surgery Research Grant 2016: Impact of intrinsic coagulation pathway factors activity and hemostatic markers of endothelial dysfunction on thrombotic complications in patients with atherosclerotic peripheral arterial disease.

В исследование было включено 120 пациентов со IIБ-III стадией заболевания по классификации А.В. Покровского-Фонтейна. Все пациенты были разделены на 3 группы:

Группа А: 40 пациентов, которым выполнены открытые оперативным вмешательства на артериях аорто-бедренного и бедренно-подколенного сегментов.

Группа В: 40 пациентов, которым выполнены эндоваскулярные вмешательства на артериях аорто-бедренного и бедренно - подколенного сегментов.

Группа С: 40 пациентов (группа контроля), которые проходили консервативное лечение.

Согласно дизайну исследования пациентам групп А и В проводилось определение активности ФВ, VIII, IX, XI факторов, ПрС и NO до и через 3 месяца после операции, группе С только при включении в исследование. Через 3, 6 и 12 месяцев пациенты всех 3 групп подвергались общему осмотру, измерению лодыжечно-плечевого индекса и ультразвуковому сканированию артерий нижних конечностей для оценки тромботических осложнений, проходимости шунтов и прогрессирования заболевания.

Как показали полученные результаты у пациентов групп А и В наблюдалось исходное увеличение активности ФВ, VIII, IX, XI факторов при нормальном уровне ПрС и сниженном NO. У пациентов группы С была повышена активность ФВ, IX, XI факторов при нормальном уровне VIII фактора, ПрС и NO. Более высокие показатели ФВ, VIII, IX, XI факторов и низкие NO у пациентов групп А и В в сравнении с показателями группы С связаны с тяжестью заболевания. Чем выше стадия заболевания ОААНК, тем сильнее выражен гиперкоагуляционный потенциал.

Через 3 месяца после оперативного вмешательства у пациентов прослеживается дальнейшее увеличение активности ФВ, VIII, IX и XI факторов на фоне снижения NO и ПрС. На фоне нарушения функционального состояния эндотелия, которое выражается в повышении ФВ и снижении NO происходит повышения активности VIII, IX, XI факторов у пациентов группы А, подтвержденное корреляционным анализом. Хотя ПрС остается в пределах нормы, мы наблюдаем тенденцию к снижению ПрС через 3 месяца после включения в исследование. В послеоперационном периоде пациенты получали антикоагулянтную и антиагрегантную терапию с последующим переходом на двойную антиагрегантную терапию. Несмотря на данную терапию, показатели внутреннего каскада коагуляции и гемостатический маркер ЭД – ФВ были повышены. Возможно, необходим поиск других алгоритмов антитромботической терапии в послеоперационном периоде у пациентов с ОААНК для профилактики осложнений.

У 3 (7.5%) пациентов группы С через 6 месяцев после включения в исследование выявлен инфаркт миокарда, по поводу которого было проведено специализированное лечение. Исходно у этих больных были повышены уровни ФВ, VIII, IX, IX фактора при нормальном уровне ПрС и NO. Статистически значимое увеличение было получено только для ФВ ($p=0.019$).

Таким образом, предиктором развития инфаркта миокарда может выступать повышенный уровень ФВ.

У 4 (10%) пациентов группы В по данным УЗДС артерий нижних конечностей через 6 месяцев выявлен рестеноз зоны реконструкции, который потребовал повторного эндоваскулярного вмешательства с положительным эффектом. До операции у этих пациентов была повышена активность ФВ, VIII, IX, XI факторов, при сниженном уровне NO и нормальном значении ПрС. Статистически значимые изменения были получены для ФВ ($p=0.023$) и NO ($p=0.003$). Через 3 месяца наблюдается тенденция к росту активности ФВ, факторов внутреннего каскада, при дальнейшем снижении NO и ПрС. Статистически значимые изменения были получены для ФВ ($p=0.014$) и NO ($p=0.006$).

Таким образом, повышенный уровень ФВ и пониженный NO могут выступать предикторами развития рестеноза зоны реконструкции.

У 5 (15 %) пациентов группы А по данным УЗДС артерий нижних конечностей через 12 месяцев выявлено прогрессирование атеросклеротического поражения артерий нижних конечностей. У данных пациентов кровообращение в нижних конечностях было компенсировано, и необходимости в повторных оперативных вмешательствах не возникло. До операции у данных пациентов была повышена активность ФВ, VIII, IX, XI факторов, при сниженном уровне NO и нормальном значении ПрС. Статистически достоверных изменений получено не было. Через 3 месяца наблюдается тенденция к росту активности ФВ, факторов внутреннего

каскада, при дальнейшем снижении NO и ПрС. Статистически значимые различия были получены для ФВ ($p=0.027$) и NO ($p=0.014$).

Можно сделать вывод, что предиктором развития прогрессирования заболевания является повышенный уровень ФВ и пониженный уровень NO в послеоперационном периоде.

У 6 (15%) пациентов группы А в раннем послеоперационном периоде имел место тромбоз зоны реконструкции подтвержденный данными УЗДС артерий нижних конечностей. Причинами данного осложнения в 70% случаев явилась интраоперационная переоценка периферического русла при первичной реконструкции. У данных пациентов были исходно повышены уровни ФВ, VIII, IX, XI факторов, при нормальном уровне ПрС и сниженном NO. Статистически значимое отличие было получено только для VIII фактора ($p=0.01$). Через 3 месяца после операции наблюдался дальнейший рост активности ФВ, сохранялся повышенный уровень VIII, IX, XI факторов, при дальнейшем снижении NO.

Повышенный уровень гемостатических маркеров способствовал более раннему возникновению тромботических осложнений и более тяжелому течению послеоперационного периода.

ВЫВОДЫ

1. У пациентов с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей активность фактора Виллебранда повышена в 3 раза, VIII фактора в 1.2 раза, IX фактора в 1.4 раза, XI фактора в 1.3 раза и снижен уровень метаболитов оксида азота (II) на 14.3%.

2. Через 3 месяца после оперативного вмешательства наблюдается увеличение активности фактора Виллебранда на 55%, VIII фактора на 24%, IX фактора на 21%, XI фактора на 14% при снижении метаболитов оксида азота (II) на 24%.

3. У всех пациентов наблюдались прямые корреляционные связи между факторами VIII, IX, XI, а через 3 месяца после операции отмечалась обратная связь метаболитов оксида азота (II) с фактором Виллебранда.

4. У пациентов после открытых операций выявлена обратная корреляция между метаболитами оксида азота (II) и VIII, XI факторами, а также прямая корреляция между фактором Виллебранда и VIII, IX и XI факторами внутреннего каскада.

5. Развитие рестеноза после эндоваскулярного и прогрессирование атеросклеротического процесса после открытого вмешательства связано с увеличенной активностью фактора Виллебранда и пониженным уровнем метаболитов оксида азота (II). У пациентов с тромбозами зоны реконструкции была статистически значимо повышена активность VIII фактора ($p=0.01$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У пациентов с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей со II-III стадией заболевания по классификации А.В. Покровского-Фонтейна, которым планируются открытые либо эндоваскулярные операции на магистральных артериях нижних конечностей, необходимо до и через 3 месяца после оперативного вмешательства определение активности фактор Виллебранда, VIII, IX, XI факторов, метаболитов оксида азота (II).
2. В случае повышения факторов внутреннего каскада коагуляции и гемостатических маркеров дисфункции эндотелия пациентам требуется регулярное наблюдение у сосудистого хирурга с ультразвуковым дуплексным сканированием артерий нижних конечностей 1 раз в 3 месяца.
3. У пациентов с мультифокальным атеросклерозом и повышенным уровнем факторов внутреннего каскада и гемостатических маркеров дисфункции эндотелия необходимо наблюдение врача-кардиолога 1 раз в 3 месяца ввиду высокого риска возникновения сердечно-сосудистых осложнений в виде инфаркта миокарда.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамов, И.С. Отдаленные результаты полузакрытой эндартерэктомии петель из поверхностной бедренной артерии и бедренно-подколенного шунтирования [Текст] / И.С.Абрамов, Д.А.Майтесян, Т.А.Лазарян // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2014. – Т. 20, № 4. –С. 147-150.
2. Ачкасов, Е.Е. Применение аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, в клинической практике [Текст] / Е.Е.Ачкасов, Э.Н.Безуглов, А.А.Ульянов [идр.] // Биомедицина. – 2013. № 4. –С. 46-59.
3. Ашер, Э. Сосудистая хирургия по Хаймовичу / Э.Ашера; пер. с англ. под ред. А.В. Покровского. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2010. – 644 С.10
4. Белов, Ю.В. Повторные реконструктивные оперативные операции на аорте и магистральных артериях / Ю.В.Белов, А.Б.Степанов. - М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2009. - 176с.
5. Бокерия, Л.А. Руководство по ретгеноэндоваскулярной хирургии сердца и сосудов / Л.А.Бокерия, Б.Г.Алеккяна, М.Анри. М.: НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, 2013. - 598 с.
6. Булаева, Н.И. Эндотелиальная дисфункция и оксидативный стресс: роль в развитии кардиоваскулярной патологии [Текст] / Н.И.Булаева, Е.З.Голухова // Креативная медицина. - 2013; № 1. –С. 14-22.
7. Буркова, Н.Н. Госпитальные исходы реконструктивных вмешательств на аорто - бедренном сегменте у пациентов с мультифокальным атеросклерозом [Текст] / Н.Н.Бурков, А.Н.Казанцев, Р.С.Тарасов // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2018. – Т. 24, № 2. –С. 139-145.
8. Васильева, М.Ю. Коллаген-связывающая способность фактора виллебранда как качественная характеристика фактора виллебранда [Текст] / М.Ю.Васильева, А.В.Колосков., О.И.Филиппова // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2016. – Т. 67, № 3. –С. 93-96.
9. Гавриленко, А.В. Результаты хирургических реваскуляризации у больных после стентирования артерий нижних конечностей [Текст] / А.

В.Гавриленко, А.Э.Котов, Д.В.Шаталова // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2016. - Т. 22, № 1. –С. 165-168.

10. Гавриленко, А.В.Тактические ошибки в хирургическом лечении больных с критической ишемией нижних конечностей при поражении артерий бедра и голени [Текст] / А.В.Гавриленко, А.Э.Котов, Я.Ю. Муравьева // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2011. № 5. –С. 10-14.

11. Гельфанда, Б.Р. Интенсивная терапия: национальное руководство: в 2т. / Б.Р. Гельфанда, А.И. Салтанова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. - 960с.

12. Голухова, Е.З. Клинические и лабораторные предикторы неблагоприятных кардиальных событий у больных ишемической болезнью сердца после планового чрескожного коронарного вмешательства [Текст] / Е.З.Голухова, М.В.Григорян, М.Н.Рябина [и др.] // Рациональная фармакотерапия в кардиологии 2016. - Т. 12, №. 5. –С. 528-535.

13. Горшунова, Н.К. Влияние оксида азота на регуляцию агрегационного процесса у больных гипертонической болезнью при старении [Тест] / Н.К. Горшенева, Н.И. Соболева // Современные проблемы науки и образования. – 2011. – Т. 6. –С. 53-60.

14. Гуревич, В.С. Современные представления о патогенезе атеросклероза [Текст] / Болезни сердца и сосудов // - 2006.– Т. 4, № 1. –С. 4-8.

15. Гуреев, А.Д. Биохимическое кровотоечение у пациентов при открытой реконструкции брюшного отдела аорты [Текст] / А.Д.Гуреев, И.Г. Труханова, М.Г.Прожога // Известия самарского научного центра российской академии наук. – 2015. – Т. 17, № 2. –С. 292-297.

16. Дрожжин, Е.В. Динамика изменений в фибринолитической системе гемостаза у больных с синдромом критической ишемии нижних конечностей [Текст] / Е.В.Дрожжин, О.Н.Сидоркина, Ю.В.Никитина [и др.] // - 2012. № 6. –С.1-10.

17. Дронь, А.Н. Физиологические изменения гемостаза в различные возрастные периоды жизни [Текст] / А.Н.Дронь // Медицинская наука и образование Урала. – 2012. – Т. 13, № 3. –С. 123-127.

18. Дубин, Н.А. Хаотическая динамика параметров гемостаза больных с критической ишемией нижних конечностей [Текст] / Н.А.Дубин, В.В.Еськов, О.Н.Сидоркина [и др.] Сложность. Разум. Постнеклассика. – 2013. – Т. 2. -С. 3-12.
19. Евдокименко, А.Н. Иммуногистохимические и ультраструктурные признаки нарушения атромбогенных свойств эндотелия при атеросклерозе каротидного синуса [Текст] / А.Н.Евдокименко, Т.С.Гулевская, М.М.Танашян // Клиническая неврология. – 2016. – Т.10, № 4. -С. 32-37.
20. Жалялов, А.С. Современные представления о системе фибринолиза и методах диагностики ее нарушений [Текст] / А.С.Жалялов, А.Н.Баландина, А.Д.Купраш [и др.] // Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. - 2017. – Т. 16, № 1. –С. 69-82.
21. Заболотских, И.Б. Диагностика и коррекция расстройств системы гемостаза / И.Б.Заболотских, С.В.Синьков, С.А.Шапошников. - М.: Практическая медицина, 2008. - 333 с.
22. Затевахин, И.И. Отдаленные результаты открытых и эндоваскулярных операций в коррекции окклюзивно - стенотических поражений артерий бедренно - подколенного сегмента [Текст] / И.И.Затевахин, В.Н.Шиповский, В.Н.Золкин // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2011. - Т. 17, № 3. –С. 59-62.
23. Зубаиров, Д.М. Современные доказательства концепции непрерывного свертывания крови в организме [Текст] / Д.М.Зубаиров // Тромбоз, гемостаз и реология. 2010. -С. 17-21.
24. Иванов, С.Н. Роль эндотелиальной дисфункции в генезе сердечно-сосудистой патологии [Текст] / С.Н.Иванов, Е.А.Старовойтова, Л.М.Огородова [и др.] // Сибирский медицинский журнал. – 2007. – Т. 22, № 1. -С. 99-104.
25. Казаков, Ю.И. Выбор метода реконструктивной операции у больного с атеросклеротической окклюзией бедренно-подколенно - берцового сегмента в

стадии критической ишемии [Текст] / Ю.И.Казаков, И.Б.Лукин // Ангиология и сосудистая хирургия. - 2014. – Т. 20, № 3. -С. 135-139.

26. Казаков, Ю.И. Антитромботическая терапия после шунтирования ниже паховой связки [Текст] / Ю.И.Казаков, И.Б.Лукин, Н.Ю.Соколова // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2017. – Т. 23, № 4. –С. 13-19.

27. Казанцев, А.В. Диагностика прогрессирующего течения облитерирующего атеросклероза бедренно – подколенно - берцовой локализации [Текст] / А.В.Казанцев, Е.А.Корымасов // Фундаментальные исследования. - 2011. № 1. –С. 62-67.

28. Калинин, Р.Е. Генная индукция ангиогенеза у неоперабельных пациентов с атеросклерозом и сахарным диабетом [Текст] / Р.Е.Калинин, И.А.Сучков, Р.В.Деев [и др.] // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2018. – Т. 24, № 2. –С. 33-39.

29. Калинин, Р.Е. Динамика некоторых биохимических показателей у больных с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей в различные сроки после реконструктивных операций [Текст] / Р.Е.Калинин, И.А.Сучков, А.А.Никифоров [и др.] // Российский медико-биологический вестник им. Акад. И.П. Павлова. – 2012. – Т. 1. –С. 42-45.

30. Калинин, Р.Е. Ишемическая болезнь в практике семейного врача / Р.Е. Калинин, В.Н. Абросимов. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2016. – 206 с.

31. Калинин, Р.Е. Коррекция эндотелиальной дисфункции как компонент в лечении облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей [Текст] / Р.Е.Калинин, И.А.Сучков, А.С.Пшенников // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2014. – Т. 20, №3 (4). –С. 17-22.

32. Калинин, Р.Е. Фотоколориметрический метод определения оксида азота в сыворотке крови [Текст] / Р.Е.Калинин // Астраханский мед.журн. – 2010. – Т.5, №1 (Прил.) – С. 188-189. – (Прил. к журн.:Материалы 7-й Междунар. науч. - практ. конф. «Достижения фундаментальных наук в решении актуальных проблем медицины» (Астрахань, 2010)).

33. Калинин, Р.Е. Эндотелиальная дисфункция и способы ее коррекции при облитерирующем атеросклерозе [Текст] / Р.Е.Калинин, И.А.Сучков, А.С.Пшенников // М.: ГЕОТАР-МЕДИА. - 2014; - 12 с.
34. Карпенко А.А. Результаты вмешательств у больных с окклюзионно-стенотическими поражениями артерий аорто – подвздошного сегмента [Текст] / А.А.Карпенко, В.Б.Стародубцев, П.В.Игнатенко // Ангиология и сосудистая хирургия. - 2016. - Т. 22, № 2. –С. 77-81.
35. Киричук, В.Ф. Дисфункция эндотелия / В.Ф.Киричук, А.И.Глыбочко. Саратов: СГМУ, 2008. - 110с.
36. Киричук, В.Ф. Оксид азота и микроциркуляторное звено системы гемостаза [Текст] / В.Ф.Киричук, Е.В.Андронов // Тромбоз, гемостаз и реология. - 2007. № 4. –С. 14-21.
37. Киричук, В. Ф. Функции эндотелия сосудистой стенки [Текст] / В.Ф.Киричук, А.П.Ребров, С.П. Россошанская // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2005. – Т. 226, № 2. –С. 23-29.
38. Красильникова, Е.И. Патогенетическая роль тканевого фактора в атеротромбозе и дисфункции эндотелия [Текст] / Е.И. Красильникова, Е.Г. Сергеева, Д. Саха [и др.] // Артериальная гипертензия. – 2012. – Т. 18, № 3. - С. 213-221.
39. Кузнецов К.А. Стенты сосудов: подходы, используемые для повышения их клинической эффективности [Текст] / К.А.Кузнецов, М.В.Харьков, А.А. Карпенко [и др.] // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2018. – Т. 24, № 2. –С. 69-79.
40. Лазаренко, В.А. Оценка фибринолитической активности у больных облитерирующим атеросклерозом нижних конечностей до и после реконструктивных вмешательств [Текст] / В.А. Лазаренко, Е.А. Бобровская М.В. Хруслов [и др.] // Тромбоз, гемостаз и реология. - 2017.- Т. 69, № 1.–С. 55-59.

41. Лебедев, С.В. Клеточная терапия критической ишемии нижних конечностей (проблемы и перспективы) [Текст] / С.В. Лебедев, А.В. Карасев, В.В. Кунгурцев [и др.] // Вестник РАМН. - 2013.– Т. 3, № 33. -С. 33-44.
42. Лихачева, Е.А. Международный опыт диагностики болезни Виллебранда [Текст] / Е.А.Лихачева, Т.Ю.Полянская, В.Ю.Заренко // Гематология и трансфузиология. – 2013. – Т. 8, № 4. –С. 45-49.
43. Макацария А.Д. Система протеина С и патологические состояния организма, в частности в акушерской практике [Текст] / А.Д.Макацария, Р.А. Абрамян, Д.Х.Хизроева // Медицинская наука Армении НАН РА. – 2013.– Т. 3, № 4. –С. 8-20.
44. Мелкумян, А.Л. Факторы риска системы гемостаза при заболеваниях аорты, магистральных и периферических сосудов [Текст] / А.Л. Мелкумян, К.М. Морозов, Н.Н. Самсонова // НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. – М., 2001. – 36 с.
45. Метельская, В.А. Скрининг – метод определения уровня метаболита оксида азота в сыворотки крови человека [Текст] / В.А. Метельская, Н.Г. Гуманова // Клиническая и лабораторная диагностика. – 2005. – Т. 6. –С. 15-19.
46. Метельская, В.А. Скрининг - метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке [Текст] / В.А.Метельская, Н.Г.Гуманова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2005. № 6. -С. 15-18.
47. Момот, А.П. Перспективные направления в диагностике и лечении критических нарушений гемостаза. Тромбоз, гемостаз и реология. – 2010. №1. -С. 11-16.
48. Папоян, С.А. Отдаленные результаты эндоваскулярного лечения поражений поверхностной бедренной артерий типов С и D по классификации TASC II [Текст] / С.А. Папоян, А.А.Щеголев, А.Н. Радченко // Ангиология и сосудистая хирургия. - 2018. – Т. 24, № 1. –С. 73-77.

49. Папоян, С.А. Результаты эндоваскулярного лечения больных с поражением аорто-подвздошного сегментатипов С и D по классификации TASC II [Текст] / С.А.Папоян, А.А.Щеголев, Д.Г.Громов // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2016. - Т. 22, № 3. –С. 75-79.
50. Питык, А.И. Реваскуляризация нижних конечностей у больных с критической ишемией, обусловленной поражением инфрангвинальных артерий [Текст] / А.И.Питык, В.А.Прасол, В.В.Бойко // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2014. – Т. 20, № 4. –С. 153-157.
51. Покровский, А.В. Оценка эндотелиальной дисфункции в профилактике осложнений у больных споражением периферических артерий [Текст] / А.В. Покровский, В.А.Кульбак, Т.А.Кременчугская [и др.] // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2017. –Т. 23, № 4. –С. 29-33.
52. Покровский, А.В. Результаты использования комбинированных шунтов с дистальным анастомозом ниже щели коленного сустава [Текст] / А.В. Покровский, Д.И.Яхонтов // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2014. – Т. 20, № 2. –С. 140-146.
53. Полонецкий, О.Л. Дисфункция эндотелия и атеросклероз [Текст] / О.Л. Полонецкий, Л.З. Полонецкий // Медицинский новости. – 2012. № 6. –С. 6-11.
54. Поляков, П.И. Облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей у лиц старческого возраста [Текст] / П.И. Поляков, С.Г. Горелик, Е.А. Железнова // Вестник новых медицинских технологий. - 2013. - Т. 20, № 1. –С. 98-101.
55. Попова, Л.В. Применение антиагрегантов в клинической практика [Текст] / Л.В. Попова, И.Н. Бокарев // Практическая медицина. – 2014. –Т. 82, № 6. –С. 22-28.
56. Пушкарева, Т.А. Критерии оценки дисфункции эндотелия и пути ее коррекции [Текст] / Т.А.Пушкарева, Л.Б.Корякина, А.А.Рунович [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2008. - Т.5. –С. 3-7.

57. Рудакова, А.В. Фармакоэкономические аспекты применения апискабана для профилактики сердечно-сосудистых осложнений у пациентов с неклапанной фибрилляцией предсердий [Текст] / А.В. Рудакова // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2015. – Т. 11, № 1. –С. 274-281.
58. Самсонова, Н.Н. Клинико-лабораторная оценка способов антикоагуляции при операциях у больных с атеросклеротическим поражением аорты и ее ветвей [Текст] / Н.Н.Самсонова, А.Л.Мелкумян, Е.Г. Тутов // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2005. – Т. 226, № 2. –С. 47-49.
59. Синьков, С.В. Диагностика и коррекция расстройств системы гемостаза [Текст] / С.В.Синьков, И.Б.Заболотских. - М.: Практическая медицина, 2017. – 336 с.
60. Соколов, Е.И. Взаимосвязь эндотелина-1, фактора виллебранда и показателей тромботического статуса при ишемической болезни сердца [Тест] / Е.И.Соколов, С.Р.Штин, Н.В.Баюрова // Технологии живых систем. – 2013. – Т. 10, № 6. –С. 57-64.
61. Суковатых, Б.С. Бедренно-подколенное шунтирование свободным аутовенозным трансплантатом ниже щели коленного сустава в лечении критической ишемии нижних конечностей [Текст] / Б.С.Суковатых, Л.Н. Беликов, М.Б.Суковатых [и др.] // Новости хирургии. - 2015. – Т. 23, № 6. – С. 637-643.
62. Тимина, И.Е. Диагностическое значение цветового дуплексного сканирования в оценке состояния артерий на этапах инфраингвинальных реконструкций [Текст] / И.Е.Тимина, И.И.Пяткова, А.Е.Зотиков //Ангиология и сосудистая хирургия. - 2017. – Т. 23, № 1. –С. 51-58.
63. Тимина, И.Е. Ультразвуковое исследование с контрастным усилением у пациентов с поражениями артерий нижних конечностей [Текст] / И.Е. Тимина, Н.Н.Аскеров Н.Н., Г.Г.Кармазановский [и др.] // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2018. – Т. 24, № 2. –С. 41-47.

64. Троицкий, А. Национальные рекомендации по ведению пациентов с заболеваниями артерий нижних конечностей [Текст] / А. Троицкий, А. Чупин, А.В. Покровский [и др.] // *Ангиология и сосудистая хирургия*. - 2013. – Т. 19, № 2. –С. 68.
65. Цвибель, В.В. Ультразвуковое исследование сосудов / Цвибель В.В. Митькова, Ю.М. Никитина. – М.: Издательский дом Видар – М, 2008. – 646 с.
66. Швальб, П.Г. Возможные пути стимуляции выработки оксида азота, как основного индуктора эндотелиальной дисфункции, кардиотропными лекарственными средствами у больных облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей [Текст] /П.Г.Швальб, Р.Е.Калинин, А.С. Пшенников // *Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова*. – 2011. – Т. 2. –С. 52-58.
67. Шишонок, А.И. Современные аспекты гемостаза [Текст] / А.И. Шишонок, И.Г. Щербакова // *Международный студенческий научный вестник*. – 2015. № 2. –С. 1-4.
68. Яровая Г.А. Калликрин-кининовая система. Прошлое и настоящее (к 90-летию открытия системы) [Текст] / Г.А. Яровая, А.Е. Нешкова // *Биорганическая химия*. - 2015. – Т. 4, № 3. -С. 275-291.
69. Aboyans, V. 2017 ESC Guidelines on the Diagnosis and Treatment of peripheral arterial diseases, in collaboration with the European Society for vascular surgery [Text] / Jean – Baptiste Ricco, E.L. Marie-Louise. Bartelink, M. Bjorck [et al.] // *European Heart Journal*. - 2017; -P. 1-60.
70. Adam D.J. Antiplatelet and anticoagulant therapy to prevent bypass graft thrombosis in patients with lower extremity arterial occlusive disease [Text] / D.J.Adam, P.A. Stonebridge, J.J.Belch [et al.] // *Int Angiol*. - 2001. - Vol. 20, Issue 1. –P. 90-8.
71. Aĭsina, R.B. Structure and functions of plasminogen/plasmin system [Text] / R.B.Aĭsina // *Mukhametova Bioorg Khim*.– 2014. - Vol. 40, Issue 6. –P. 642-57.

72. Aquilino O. Update on ADAMTS13 and VWF in cardiovascular and hematological disorders [Text] / O. Aquilino, S. Akyol, C.H. Chen // *Clin Chim Acta.* - 2016. - Vol. 463. -P. 109-118.
73. Ananyeva, N.M. Intrinsic pathway of blood coagulation contributes to thrombogenicity of atherosclerotic plaque [Text] / N.M. Ananyeva, D.V. Koukavskaya, M. Shima [et al.] // *Blood.* - 2002. - Vol. 99, Issue 12. -P. 4475-85.
74. Bank, I. Elevated levels of FVIII: C within families are associated with an increased risk for venous and arterial thrombosis [Text] / I. Bank, L.E.J. Libourel, S.J. Middeldorp // *Thromb Haemost.* - 2005. - Vol. 3, Issue 1. -P. 79-84.
75. Benedict, C.R. Active site-blocked factor IXa prevents intravascular thrombus formation in the coronary vasculature without inhibiting extravascular coagulation in a canine thrombosis model [Text] / J. Ryan, B. Wolitzky [et al.] // *J Clin Invest.* - 1991. - Vol. 88, Issue 5. -P. 1760-5.
76. Benoit, E. Improved amputation-free survival in unreconstructable critical limb ischemia and its implications for clinical trial design and quality measurement [Text] / E. Benoit, TF Jr O'Donnell, D. Georgios [et al.] // *J. Vasc. Endovasc. Surg.* - 2012. - Vol. 55 Issue 3. -P. 781-789.
77. Bernardo, A. Effects of inflammatory cytokines on the release and cleavage of the endothelial cell-derived ultralarge von Willebrand factor multimers under flow [Text] / A. Bernardo, C. Ball, L. Nolasco [et al.] // *Blood.* - 2004. - Vol. 104, Issue 1. -P. 100-106.
78. Bjorck, M. Plasminogen activator inhibitor-1 levels and activity decrease after intervention in patients with critical limb ischaemia [Text] / M. Bjorck, M. Lepkowska Erikson, A. Bylock [et al.] // *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery.* - 2013. - Vol. 46, Issue 2. -P. 214-222.
79. Blomstrand, D. Activated protein C-protein C inhibitor complex in peripheral arterial disease [Text] / D. Blomstrand, T. Kölbl, B. Lindblad // *Ann Vasc Surg.* - 2010. - Vol. 24, Issue 5. -P. 588-95.

80. Boufi, M. Subintimal recanalization plus stenting or bypass for management of claudicants with femoro-popliteal occlusions [Text] / M. Boufi, A. Azghari, K. Belahda [et al.] // *Eur J Vasc Endovasc Surg.* - 2013. - Vol. 46, Issue 3. -P. 347-52.
81. Bouwens, E.A. Mechanisms of anticoagulant and cytoprotective action of the protein C pathway [Text] / E.A. Bouwens, F. Stavenuiter, O.L. Mosnier [et al.] // *J Thromb Haemost.* - 2013. - Vol. 1. -P. 242-53.
82. Cassar, K. Markers of coagulation activation, endothelial stimulation and inflammation in patients with peripheral arterial disease [Text] / K. Cassar, P. Bachoo, I. Ford [et al.] // *Eur J Vasc Endovasc Surg.* - 2005. - Vol. 29, Issue 2. - P. 171-176.
83. Centelles, M.N. Blocking endothelial protein C receptor (EPCR) accelerates thrombus development in vivo [Text] / M.N. Centelles, C. Puy, J. López-Sagaseta [et al.] // *Thromb Haemost.* - 2010. - Vol. 103, Issue 6. -P. 1239-44.
84. Chan, A.K. The coagulation system in humans [Text] / A.K. Chan, N. Paredes // *Methods Mol Biol.* - 2013. - Vol. 992. -P. 3-12.
85. Chan, J. The characterization of mice with a targeted combined deficiency of protein C and factor XI [Text] / J. Chan, J. Ganopoulos, I. Cornelissen [et al.] // *Am J Pathol.* - 2001. - Vol. 158, Issue 2. -P. 469-79.
86. Colhoun, H.M. Activated factor XII levels and factor XII 46C>T genotype in relation to coronary artery calcification in patients with type 1 diabetes and healthy subjects [Text] / H.M. Colhoun, F. Zito, N. Norman Chan [et al.] // *Atherosclerosis.* - 2002. - Vol. 163, Issue 2. -P. 363-369.
87. Cortellaro, M. The PLAT Study: hemostatic function in relation to atherothrombotic ischemic events in vascular disease patients. Principal results. PLAT Study Group. Progetto Lombardo Atero-Trombosi (PLAT) Study Group [Text] / M. Cortellaro, C. Boschetti, E. Cofrancesco [et al.] // *Arterioscler Thromb.* - 1992. - Vol. 12, Issue 9. -P. 1063-1070.
88. Costa, C. Elevated factor VIII in a patient with acute coronary syndrome [Text] / C. Costa, M. Alves, D. Durão // *Rev Port Cardiol.* - 2014. - Vol. 33, Issue 3:181.P.e1-4.

89. Curi, M.A. Long-term outcome of infrainguinal bypass grafting in patients with serologically proven hypercoagulability [Text] / M.A.Curi, C.L.Skelly, Z.K. Baldwin // *J Vasc Surg.* – 2003. - Vol. 37, Issue 2. –P. 301-306.
90. Cushman, M. Coagulation factors IX through XIII and the risk of venous thrombosis: the Longitudinal Investigation of Thromboembolism Etiology [Text] / M.Cushman, E.S.O'Meara, A.R. Folsom [et al.] // *Blood.* - 2009. - Vol. 114, Issue 14. -P. 2878-2883.
91. de Maat, S. Contact system activation on endothelial cells [Text] / S. de Maat, P.G. de Groot, C. Maas // *Semin Thromb Hemost.* – 2014. - Vol. 40, Issue 8. –P. 887-894.
92. De Meyer, S.F. von Willebrand factor: an emerging target in stroke therapy [Text] / De Meyer, S.F., G.Stoll, D.D.Wagner [et al.] // *Stroke.* - 2012. – Vol. 43, Issue 2. –P. 599-606.
93. Desch, K.C. Regulation of plasma von Willebrand factor [Text] / K.C. Desch // *F1000Res.* – 2018. - Vol. 23, Issue 7. –P. 96.
94. Doggen, C.J. Levels of intrinsic coagulation factors and the risk of myocardial infarction among men: Opposite and synergistic effects of factors XI and XII [Text] / C.J.Doggen, F.R.Rosendaal, J.C.Meijers // *Blood.* – 2006. - Vol. 108, Issue 13. -P. 4045–4051.
95. Du, Y. Effects of percutaneous lower-extremity arterial interventions on endothelial function and inflammation response in patients with both type 2 diabetes and lower-extremity peripheral arterial disease [Text] / Y.Du, F.Qi H. Wang [et al.] // *Int J ClinExpPathol.* – 2015. -Vol. 8, Issue 7. –P. 8115-8121.1
96. Dua, A. Epidemiology of Peripheral Arterial Disease and Critical Limb Ischemia [Text] / A.Dua, C.J.Lee // *TechVascintervRadiol.* - 2016. - Vol. 19, Issue 2. –P. 91-95.
97. Epidemiology of Atherosclerosis and the Potential to Reduce the Global Burden of Atherothrombotic Disease [Text] / W.Herrington, B.Lacey, P. Sherliker [et.al] // *Circulation Research.* –2016. - Vol. 118, Issue 4. -P. 535-46.

98. Eskov, V.M. Measurement of the dynamic parameters of microchaos in the behavior of living biosystems [Text] / V.M. Eskov, T.V.Gavrilenko, V.V.Kozlova [et.al] // Measurement Techniques. – 2012. – Vol. 55, Issue 9. -P. 1096-1102.
99. Eskov, V.M. Characteristic features of measurements and modeling for biosystems in phase of states [Text] / V.M.Eskov, V.V.Eskov, O.V.Filatova // Measurement Techniques (Medical and Biological Measurements). - 2011. – Vol. 53, Issue 12. –P. 1404-1410.
100. Everett, L.A. Murine coagulation factor VIII is synthesized in endothelial cells [Text] / L.A. Everett, A.C. Cleuren, R.N. Khoriaty // Blood. – 2014.- Vol. 123, Issue 24. –P. 3697-705.
101. Foley, J.H. Cross Talk Pathways Between Coagulation and Inflammation [Text] / J.H.Foley, E.M.Conway // Circ Res. – 2016. - Vol. 118, Issue 9. –P. 1392-408.
102. Foo, R.S. Inhibition of platelet thrombosis using an activated protein C-loaded stent: in vitro and in vivo results [Text] / R.S.Foo, A.H. Gershlick, K. Hogrefe // ThrombHaemost. – 2000. - Vol. 83, Issue 3. –P. 496-502.
103. Gailani, D. Factor XI as a Therapeutic Target [Text] / D.Gailani, A.Gruber // Arterioscler ThrombVasc Biol. - 2016. - Vol. 36, Issue 7. –P.1316-22.
104. Geraghty, A.J. Antithrombotic agents for preventing thrombosis after infrainguinal arterial bypass surgery [Text] / A.J.Geraghty, K.Welch // Cochrane Database Syst. Rev. – 2011. - Vol. 6. - CD000536.
105. Girolami, A. Congenital factor XI and factor VII deficiencies assure an apparent opposite protection against arterial or venous thrombosis: An intriguing observation [Text] / A.Girolami, E.Peroni, B.Girolami // Hematology. - 2016. - Vol. 21, Issue 8. –P. 486-489.
106. Girolami, A. The occasional venous thromboses seen in patients with severe (homozygous) FXII deficiency are probably due to associated risk factors: a study of prevalence in 21 patients and review of the literature [Text] / A.Girolami, M.L.Randi., S.Gavasso [et al.] // J. Thromb. Thrombolysis. - 2004. - Vol. 17, Issue 2. –P. 139–143.

107. Gogia, S. Neelamegham S. Role of fluid shear stress in regulating VWF structure, function and related blood disorders. *Biorheology*. – 2015. - Vol. 52, Issue 5-6. –P. 319-335.
108. Gouse, B.M. New Thrombotic Events in Ischemic Stroke Patients with Elevated Factor VIII [Text] / B.M.Gouse, A.K.Boehme, D.J.Monlezun [et al.] // *Trombosis*. - 2014.–P.1-6.
109. Green, D. Association of the von Willebrand Factor-ADAMTS13 ratio with incident cardiovascular events in patients with peripheral arterial disease [Text] / D.Green, L.Tian, P.Greenland [et al.] // *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. – 2016. - Vol. 1, Issue 7. –P. 1-7.
110. Gruber, A. The role of the contact pathway in thrombus propagation [Text] / A.Gruber // *ThrombRes*. - 2014. - Vol. 133, Issue 1. -P. 45-47.
111. Grundt, H. Activated factor 12 (FXIIa) predicts recurrent coronary events after an acute myocardial infarction [Text] /H.Grundt, D.W.Nilsen, O.Hetland [et al.] // *Am. Heart J.* - 2004. -Vol. 147, Issue 2. -P. 260–266.
112. Harrington, L.B. The association of F11 genetic variants with the risk of incident venous thrombosis among women, by statin use [Text] / L.B. Harrington, K.L. Wiggins [et al.] // *Thromb Haemost.* – 2016. Vol. 115, Issue 3. –P. 682-684.
113. Harufumi, M. Simultaneous Left Ventricular and Deep Vein Thrombi Caused by Protein C Deficiency [Text] / M.Harufumi, N.Motohiro, S.Motoaki // *Case Reports in Medicine*. - 2017. –P. 1-4.
114. Heikal, N.M. Elevated factor IX activity is associated with an increased odds ratio for both arterial and venous thrombotic events[Text] / N.M. Heikal, K.K.Murphy, R.A. Crist [et al.] // *Am J Clin Pathol.* - 2013. –Vol. 140, Issue 5. – P. 680-685.
115. Heper, G. Prospective evaluation of von Willebrand factor release after multiple and single stenting [Text] / G.Heper, S.N.Murat, T.Durmaz [et al.] // *Angiology*. – 2004. - Vol. 55. –P. 177–186.
116. Hoffman, M. Hemostasis: old system, new players, new directions [Text] / M. Hoffman, R. Pawlinski // *Thromb Res*. - 2014. - Vol. 133. -P. 1-2.

117. Hofman, A. Bradykinin: Inflammatory Product of the Coagulation System [Text] / A.Hofman, S.de Maat, C.E.Hack // ClinRev Allergy Immunol. – 2016. - Vol. 51, Issue 2. -P.152-61.
118. Howard, E.L. Factor IXa Inhibitors as Novel Anticoagulants [Text] / E.L.Howard, K.C.Becker, C.P.Rusconi [et al.] // Arterioscler Thromb Vasc Biol. - 2007. - Vol. 27, Issue 4. –P. 722-727.
119. Hu, Z. Discovery of a Potent Parenterally Administered Factor XIa Inhibitor with Hydroxyquinolin-2(1H)-one as the P2' Moiety [Text] / Z.Hu, P.C.Wong, P.J. Gilligan [et al.] // ACS Med. Chem. Lett. - 2015. - Vol. 6, Issue 5. –P. 590–595.
120. Jacquemin, M.A human monoclonal antibody inhibiting partially factor VIII activity reduces thrombus growth in baboons[Text] / M.Jacquemin, J.M.Stassen, J.M.Saint-Remy [et al.] // J ThrombHaemost. - 2009. - Vol. 7, Issue 3. –P. 429-37.
121. Jalbert, L. Inactivation of the gene for anticoagulant protein C causes lethal perinatal consumptive coagulopathy in mice [Text] / L.Jalbert, E.Rosen, L. Moons [et al.] //J Clin Invest. - 1998. - Vol. 102, Issue 8. – P. 1481–1488.
122. Jenkins, P.V. ABO blood group determines plasma von Willebrand factor levels: a biologic function after all? [Text] / P.V.Jenkins, J.S.O'Donnell // Transfusion. - 2006. -Vol. 46, Issue 10. –P. 1836–1844.
123. Jenkins, P.V. Elevated factor VIII levels and risk of venous thrombosis [Text] / P.V.Jenkins, O.Rawley, O.P.Smith [et al.] // Br J Haematol. - 2012. - Vol. 157, Issue 6. –P. 653-63.
124. Ji, Y. Pharmacological Targeting of Plasminogen Activator Inhibitor-1 Decreases Vascular Smooth Muscle Cell Migration and Neointima Formation [Text] / Y.Ji, Z.Weng, P. Fish [et al.] // Arterioscler Thromb Vasc Biol. – 2016.- Vol. 36, Issue 11. –P. 2167-2175.
125. Kashyap, V.S. Acute arterial thrombosis causes endothelial dysfunction: a new paradigm for thrombolytic therapy [Text] / V.S.Kashyap, T.D.Reil, W.S Moore // J Vasc Surg. - 2001. - Vol. 34, Issue 2. –P. 323-329.
126. KatsanosK. Peripheral Stent Thrombosis Leading to Acute Limb Ischemia and Major Amputation: Incidenceand Risk Factors inthe Aortoiliac and Femoropopl

iteal Arteries [Text] /K.Katsanos, S.A.Al-Lamki, A.Parthipun // Cardiovasc Intervent Radiol. – 2017. - Vol. 40, Issue 3. –P. 351-359.

127. Khallou-Laschet, J.Role of the intrinsic coagulation pathway in atherogenesis assessed in hemophilic apolipoprotein E knockout mice [Text] / J. Khallou-Laschet, G.Caligiuri, E.Tupin [et al.] // Arterioscler Thromb Vasc Biol. - 2005. - Vol. 25, Issue 8. -P. 123-126.

128. Kleinschnitz, C. Targeting coagulation factor XII provides protection from pathological thrombosis in cerebral ischemia without interfering with hemostasis [Text] / C.Kleinschnitz, G.Stoll., M.Bendszus [et al.] // J Exp Med. - 2006. -Vol. 203, Issue 3. -P. 513–518.

129. Komai, H. Reduced Protein C Activity Might be Associated With Progression of Peripheral Arterial Disease [Text] / H.Komai, S.Shindo, M. Sato // Angiology. – 2015. - Vol. 66, Issue 6. –P. 584-587.

130. Komai, H. Impact of reduced endogenous anti-coagulation protein activity on vascular events of peripheral arterial disease [Text] /H.Komai, M. Juri // IntAngiol. – 2009. - Vol. 28, Issue 2. –P. 138-143.

131. Koster, T. John Hageman's factor and deep-vein thrombosis: Leiden thrombophilia study [Text] / T.Koster, F.R.Rosendaal, E.Briet [et al.] // Br. J. Haematol. – 1994. - Vol. 87, Issue 2. –P. 422–424.

132. Kotschy, D. Selected endothelial hemostatic markers in patients with peripheral arterial disease after endovascular revascularization and restenosis formation [Text] / D.Kotschy, M.Kotschy, P.Socha // Postepy Hig Med Dosw . - 2015; - Vol. 69. –P. 905-912.

133. Kovar, F.M. Coagulation factor VIII levels are associated with long-term survival - interactions with gender ina large hospital-based cohort [Text] /F.M. Kovar, C.L. Marsik, C.Joukhadar [et al.] // WienKlinWochenschr. – 2010. - Vol. 122, Issue 11-12. –P. 334-40.

134. Kuijpers, M.J. Factor XII regulates the pathological process of thrombus formation on ruptured plaques [Text] / M.J. Kuijpers, P.E.van der Meijden, M.A.

- Feijge [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2014. - Vol. 34, Issue 8. -P. 1674-1680.
135. Lasek – Bal, A. Elevated factor VIII level and stroke in patients without traditional risk factors associated with cardiovascular diseases [Text] / A.Lasek – Bal, P.Puz , Z.Kazibutowska // *Neuropsychiatr Dis Treat.* - 2013. - Vol. 9.–P. 847–852.
136. Law, R.H. New insights into the structure and function of the plasminogen/plasmin system [Text] / R.H.Law, D.Abu-Ssaydeh, J.C.Whisstock // *Curr Opin Struct Biol.* – 2013. - Vol. 23, Issue 6. –P. 836-841.
137. Lei, X. Anfibatide, a novel GPIIb complex antagonist, inhibits platelet adhesion and thrombus formation invitro and in vivo in murine models of thrombosis [Text] / X.Lei, A.Reheman, Y.Hou [et al.] *Thromb Haemost.* 2014. – Vol. 111, Issue 2. –P. 279-289.
138. Lepäntalo, M.J. Lower extremity bypass vs endovascular therapy for young patients with symptomatic peripheral arterial disease [Text] / M.J.Lepäntalo, R. Houballah, M.Raux [et al.] // *J Vasc Surg.* – 2012. - Vol. 56, Issue 2. –P. 545-554.
139. Lessiani, G. Deep venous thrombosis and previous myocardial infarction in mild factor XII deficiency: a risk factor for both venous and arterial thrombosis [Text] / G.Lessiani, A.Falco, E.Nicolucci [et al.] // *J Thromb Thrombolysis.* - 2009. - Vol. 27, Issue 3. –P. 348-351.
140. Li, H. Oxidative stress in vascular disease and its pharmacological prevention [Text] / H.Li , S.Horke, U.Forstermann // *Trends Pharmacol. Sci.* - 2013. - Vol. 13, Issue 2. –P. 161-167.
141. Lijfering, W.M. The risk of venous and arterial thrombosis in hyperhomocysteinemic subjects may be a result of elevated factor VIII levels [Text] / W.M.Lijfering, N.J.Veeger, J.L.P.Brouwer [et al.] // *Haematologica.* –2007. - Vol. 92, Issue 12. –P. 1703-1706.
142. Linnemann, B. Are patients with thrombophilia and previous venous thromboembolism at higher risk to arterial thrombosis? [Text] / B.Linnemann,

- M.Schindewolf, D.Zgouras [et al.] // *Tromb Res.* – 2008. - Vol. 121, Issue 6. –P. 743-750.
143. Lisman, T. Decreased Plasma Fibrinolytic Potential As a Risk for Venous and Arterial Thrombosis [Text] / T.Lisman // *Semin Thromb Hemost.* – 2017. – Vol. 43, Issue 2. –P. 178-184.
144. Loeffen, R. Increased factor XIa levels in patients with a first acute myocardial infarction: The introduction of a new thrombin generation based factor Xia assay [Text] / R. R. Loeffen, van Oerle, P.G. de Groot [et al.] // *Thrombosis Research.* - 2014. - Vol. 134, Issue 6. –P. 1328–1334.
145. Lowe, G.D. Factor IX and thrombosis [Text] / G.D. Lowe // *Br J Haematol.* – 2001.- Vol. 115, Issue 3. –P. 507-513.
146. Lukovic, D. Human recombinant activated protein C-coated stent for the prevention of restenosis in porcine coronary arteries [Text] /D.Lukovic, N.Nyolczas, R.Hemetsberger [et al.] // *J Mater Sci Mater Med.* – 2015. - Vol. 26, Issue 10. –P. 241.
147. Mackman, N. New targets for atherothrombosis [Text] / N. Mackman // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 2014.Vol. 34, Issue 8. –P. 1607-1608.
148. Mahmoodi, B.K., Hereditary Deficiency of Protein C or Protein S Confers Increased Risk of Arterial Thromboembolic Events at a Young Age[Text]/B.K. Mahmoodi, P.Jan-Leendert, J.Nic [et al.] // *Circulation.* - 2008. - Vol. 118. –P. 1659-1667.
149. Małeckı, R. Factor VIII and the risk of arterial thrombosis [Text] / R. Małeckı, R.Adamiec // *Postepy Hig Med Dosw.* –2006. - Vol. 60. –P. 602-608.
150. Margetic, S. Inflammation and haemostasis [Text] / S.Margetic // *Biochem Med (Zagreb).* – 2012. - Vol. 22, Issue 1. –P. 49-62.
151. Margetic, S. Inflammation and haemostasis [Text] / S. Margetic // *Biochem Med (Zagreb).* – 2012. - Vol. 22, Issue 1. -P. 49-62.
152. Methia N. Localized reduction of atherosclerosis in von Willebrand factor-deficient mice [Text] / N.Methia, P.Andre, C.V.Denis [et al.] // *Blood.* – 2001. – Vol. 98, Issue 5. –P. 1424–1428.

153. Miller, G.J. Risk of coronary heart disease and activation of factor XII in middle-aged men. *Arterioscler. Thromb [Text]* / G.J.Miller, M.P. Esnouf, A.I. Burgess [et al.] // *Vasc. Biol.* - 1997. - Vol. 17, Issue 10. –P. 2103–2106.
154. Minnema, M.C. Enhancement of rabbit jugular vein thrombolysis by neutralization of factor XI. In vivo evidence for a role of factor XI as an anti-fibrinolytic factor [Text] / P.W.Friederich, M. Levi [et al.] // *J Clin Invest.* - 1998. - Vol. 101, Issue 1. –P. 10-14.
155. Minnema, M.C. Activation of clotting factors XI and IX in patients with acute myocardial infarction [Text] / M.C.Minnema, R.J.Peters, R. de Winter [et al.] // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* - 2000. - Vol. 20, Issue 11. –P. 2489-2493.
156. Monroe, D.M. What Does It Take to Make the Perfect Clot? [Text] / D.M. Monroe, M.Hoffman // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 2006. – Vol. 26, Issue 1. –P. 41-48.
157. Mota, A.P. Hypercoagulability markers in patients with peripheral arterial disease: association to ankle-brachial index [Text] / A.P.Mota, M.E.de Castro Santos, F.D. Lima e Silva [et al.] // *Angiology.* – 2009. - Vol. 60, Issue 5. –P. 529-535.
158. Mulder, R. Associations between high factor VIII and low free protein S levels with traditional arterial thrombotic risk factors and their risk on arterial thrombosis: results from a retrospective family cohort study [Text] / R.Mulder, I.M.van Schouwenburg, B.K. Mahmoodi [et al.] // *Thromb Res.* – 2010. - Vol. 126, Issue 4. –P. e249-54.
159. Nickel, K.F. Factor XII as a Therapeutic Target in Thromboembolic and Inflammatory Diseases [Text] / K.F.Nickel, A.T.Long, T.A.Fuchs // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* - 2017. - Vol. 37, Issue 1. -P. 13-20.
160. Nightingale T. The secretion of von Willebrand factor from endothelial cells; an increasingly complicated story [Text] / T.Nightingale, D.Cutler D // *J Thromb Haemost.* – 2013. – Vol. 11, Issue 1. –P. 192-201.
161. Nikolopoulos, G.K. The association between plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI-1) levels, PAI-1 4G/5 G polymorphism, and myocardial infarction:

- a Mendelian randomization meta-analysis [Text] / G.K.Nikolopoulos, P.G. Bagos , I.Tsangaris [et al.] // Clin. Chem. Lab. Med.- 2014. - Vol. 52, Issue 7. –P. 937-950.
162. Parpugga, T.K. The effect of PAI-1 4G/5G polymorphism and clinical factors on coronary artery occlusion in myocardial infarction [Text] / T.K.Parpugga, V.Tatarunas, V.Skipskis [et al.] // Disease markers. – 2015. –P. 1-8.
163. Pärsson,H. Activation of coagulation and fibrinolytic systems in patients with CLI is not normalized after surgical revascularization [Text] / H.Pärsson, A.Holmberg, A.Siegbahn [et al.] // Eur J VascEndovasc Surg.– 2004. - Vol. 27, Issue 2. –P. 186-192.
164. Petri, B. von Willebrand factor promotes leukocyte extravasation [Text] / B. Petri, A. Broermann , H. Li [et al.] // Blood. – 2010. - Vol. 116. –P. 4712–4719.
165. Philipp, C.S. Association of hemostatic factors with peripheral vascular disease [Text] / C.S.Philipp, L.A.Cisar, H.C.Kim [et al.] // Am HeartJ. – 1997. - Vol.134, Issue 5. –P. 978-984.
166. Ray B. Plasmatissue factor is a predictor for restenosis after femoro popliteal angioplasty [Text] / B.Ray, I.C.Chetter, H.L.Lee [et al.] // Br. J. Surg. – 2007. – Vol. 94, Issue 9. –P. 1092-1095.
167. Rayt, H.S.Coagulation,fibrinolysis, and platelet activation following open surgical or percutaneous angioplasty and vascularization for symptomatic lower limb chronic ischemia [Text] /H.S. Rayt, L.Merker, R.S.Davies //Vasc Endovascular Surg. - 2016. - Vol. 50, Issue 3. –P. 193-201.
168. Refino, C.J.A Human Antibody That Inhibits Factor IX/IXa Function Potently Inhibits Arterial Thrombosis Without Increasing Bleeding [Text] / C.J. Refino, S.Jeet, L.De Guzman [et al.] // Arterioscler Thromb Vasc Biol. - 2002. - Vol.22, Issue 3. –P. 517-522.
169. Rosendaal, F.R. Haemophilia protects against ischaemic heart disease: a study of risk factors [Text] / F.R.Rosendaal, E.Briët, J.Stibbe [et al.] // Br J Haematol. - 1990. - Vol. 75, Issue 4. –P. 525-530.

170. Salomon, O. Inherited factor XI deficiency confers no protection against acute myocardial infarction [Text] / O.Salomon, D.M.Steinberg, R.Dardik [et al.] // *JThromb Haemost.* - 2003. - Vol. 1, Issue 4. –P. 658-661.
171. Sanders, Y.V. Reduced prevalence of arterial thrombosis in von Willebrand disease [Text] / Y.V.Sanders, J.Eikenboom, M.E. De Wee [et al.] // *J Thromb Haemost.* - 2013. - Vol. 11. –P. 845-854.
172. Santamaria, A. Homozygosity of the T allele of the 46 C→T polymorphism in the F12 gene is a risk factor for ischemic stroke in the Spanish population [Text] / A.Santamaria, J.Mateo, I.Tirado [et al.] // *Stroke.* - 2004. - Vol. 35, Issue 8. –P. 1795–1799.
173. Sartori, M. Thrombophilic risk factors and peripheral arterial disease severity [Text] / M.Sartori, E.Favaretto, C.Legnani [et al.] // *ThrombHaemost.* – 2010. - Vol. 104, Issue 1. –P. 71-77.
174. Sartori, M. Thrombotic risk factors and cardiovascular events after endovascular intervention for peripheral arterial disease [Text] / M.Sartori, E.Conti, E.Favaretto [et al.] // *Eur J Vasc Endovasc Surg.* – 2011. - Vol. 42, Issue 6. –P. 817-823.
175. Scheiderman, J. Increased type I plasminogen activator inhibitor gene expression in atherosclerotic human arteries [Text] / J.Scheiderman, M.S.Sawdey, M.R. Keenan [et al.] // *Proc. Natl. Acad. USA.* - 1992. - Vol. 89. –P. 6998-7002.
176. Schmaier, A.H. Antithrombotic potential of the contact activation pathway [Text] / A.H. Schmaier // *Curr Opin Hematol.* – 2016. - Vol. 23, Issue 5. -P. 445-452.
177. Sigvant, B. The risk of disease progression arterial is higher than expected: a meta-analysis of mortality and disease progression in peripheral arterial disease [Text] / B. Sigvant, F. Lundin, E.Wahlberg // *Eur J Vasc Endovasc Surg.* – 2016. Vol. 51, Issue 3. –P. 395-403.
178. Simone, T.M. Chemical antagonists of plasminogen activator inhibitor-1: mechanisms of action and therapeutic potential in vascular disease [Text] / T.M.

- Simone, P.J.Higgins, C.E.Higgins [et al.] // *J Mol Genet Med.* - 2015. - Vol. 8, Issue 3. –P. 1-14.
179. Simone, T.M. Lowmolecular weight antagonists of plasminogen activator inhibitor-1: therapeutic potential in cardiovascular disease [Text] / T.M. Simone, P.J.Higgins // *Mol. Med. Ther.* – 2013. - Vol. 1, Issue 1. –P. 101-104.
180. Smith, L.M. 2nd. Novel phenylalanine derived diamides as Factor X_{II}a inhibitors [Text] /L.M. 2nd. Smith, M.J.Orwat, Z.Hu [et al.] // *Bioorg Med ChemLett.* - 2016. - Vol. 26, Issue 2. –P. 472- 478.
181. Soare, A.M. Deficiencies of protein C, S and antithrombinand activated protein C resistance - their involvement in the occurrence of Arterial thrombosis [Text] / A.M.Soare, C.Popa // *J Med Life.* – 2010. - Vol. 3, Issue 4. –P. 412-415.
182. Solaković, E. Femoro-popliteal bypass above knee with saphenous vein vs synthetic graft [Text] / E.Solaković, D.Totić, S.Solaković // *Bosn J Basic Med Sci.* – 2008. - Vol. 8, Issue 4. -P. 367-372.
183. Sonneveld, M.A. Low ADAMTS13 activity is associated with an increased risk of ischemic stroke [Text] / M.A. Sonneveld, M.P.de Maat, M.L. Portegies [et al.] // *Blood.* – 2015. - Vol. 126, Issue 25. –P. 2739-2746.
184. Spanier, T.B. Selective anticoagulation with active site blocked factor IX_a in synthetic patch vascular repair results in decreased blood loss and operative time [Text] / T.B. Spanier, M.C.Oz, J.D. Madigan [et al.] // *ASAIO J.* - 1997. - Vol. 43, Issue 5. –P. 526-530.
185. Stavrou, E. Factor XII: what does it contribute to our understanding of the physiology and pathophysiology of hemostasis & thrombosis [Text] / E.Stavrou, A. H.Schmaier // *Thromb Res.* – 2010. -Vol. 125, Issue 3. –P. 210-215.
186. Tsakiris D.A. Circulating cell adhesion molecules and endothelial markers before and after transluminal angioplasty in peripheral arterial occlusive disease [Text] /D.A.Tsakiris, M.Tschöpl, K. Jäger // *Atherosclerosis.* – 1999. - Vol. 142, Issue 1. –P. 193-200.

187. van de Putte, D.E. History of non-fatal cardiovascular disease in a cohort of Dutch and British patients with haemophilia [Text] / D.E.van de Putte, K.Fischer, M.Makris [et al.] // *EurJHaematol.* - 2012. - Vol. 89.–P. 336–339.
188. van de Putte, D.E. Non-fatalcardiovascular disease, malignancies, and other co-morbidity in adult haemophilia patients [Text] /D.E.van de Putte, K.Fischer, A.E. Pulles [et al.] // *Thromb Res.* - 2012. - Vol. 130. –P. 157–162.
189. van Montfoort, ML. Factor XI regulates pathological thrombus formation on acutely ruptured atherosclerotic plaques [Text] / M.J.Kuijpers, V.L.Knaup [et al.] // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* - 2014. – Vol. 34, Issue 8. –P. 1668-1673.
190. van Montfoort, M. Recent insights into the role of the contact pathway in thrombo-inflammatory disorders [Text] / M.L.van Montfoort, J.C. Meijers // *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* – 2014. -Vol. 1. –P. 60-65.
191. Viq, S.The prevalence of thrombophilia in patients with symptomatic peripheral vascular disease [Text] / S.Viq, A.Chitolie, D.Bevan // *Br J Surg.* – 2006. - Vol. 93, Issue 5. –P. 577-581.
192. Vischer, U.M. von Willebrand factor, endothelial dysfunction, and cardiovascular disease [Text] /U.M.Vischer // *Journal of Thrombosis and Haemostasis.* – 2006. -Vol. 4. –P. 1186-1193.
193. von dem Borne, P.A. Factor XI enhances fibrin generation and inhibits fibrinolysis in a coagulation model initiated by surface-coated tissue factor [Text] /P.A.von dem Borne, L.M.Cox, B.N.Bouma // *Blood. Coagul Fibrinolysis.* - 2006. - Vol. 17, Issue 4. -P. 251–257.
194. Wang, X. Effects of factor IX or factor XI deficiency on ferric chloride-induced carotid artery occlusion in mice [Text] / X.Wang, Q.Cheng, L.Xu [et al.] // *JThrombHaemost.* - 2005. - Vol. 3, Issue 4. –P. 695-702.
195. Wu, Y. Contact pathway of coagulation and inflammation [Text] / Y. Wu // *Thromb J.* – 2015. - Vol. 13, Issue 17. –P.1-9.
196. Yang H. Relations between plasma von Willebrand factor or endothelin-1 and restenosis following carotid artery stenting [Text] / H.Yang, J.X.Xu, X.Z. Kong [et al.] // *Med Princ Pract.* – 2012. - Vol. 21, Issue 6. -P. 538-542.

197. Yang, D.T. Elevated factor XI activity levels are associated with an increased odds ratio for cerebrovascular events [Text] / D.T. Yang, M.M. Flanders, H. Kim [et al.] // *Am J Clin Pathol.* - 2006. - Vol. 126, Issue 3. - P. 411-415.
198. Yau, J.W. Endothelial cell control of thrombosis / H. Teoh, S. Verma // *BMC Cardiovasc Disord.* - 2015. - Vol. 15. - P. 130.
199. Yazdani-Biuki, B. The functional promoter polymorphism of the coagulation factor XII gene is not associated with peripheral arterial disease [Text] / B. Yazdani-Biuki, P. Krippel, K. Brickmann [et al.] // *Angiology.* - 2010. - Vol. 61, Issue 2. - P. 211-215.
200. Yildiz, S.Y. Functional stability of plasminogen activator inhibitor-1 [Text] / S.Y. Yildiz, P. Kuru [et al.] // *Oner The scientific world journal.* - 2014. - Vol. 85. - P. 82-93.
201. Ząbczyk, M. Factors associated with the presence of circulating active tissue factor and activated factor XI in stable angina patients [Text] / M. Ząbczyk, S. Butenas, D. Plicner [et al.] // *Blood Coagul Fibrinolysis.* - 2012. - Vol. 23, Issue 3. - P. 189-194.
202. Zanolini, D. Extrahepatic sources of factor VIII potentially contribute to the coagulation cascade correcting the bleeding phenotype of mice with hemophilia A [Text] / D. Zanolini, S. Merlin, M. Feola [et al.] // *Haematologica.* - 2015. - Vol. 100, Issue 7. - P. 881-892.
203. Zeerleder, S. Reevaluation of the incidence of thromboembolic complications in congenital factor XII deficiency—a study on 73 subjects from 14 Swiss families [Text] / S. Zeerleder, M. Schloesser, M. Redondo [et al.] // *Thromb. Haemost.* - 1999. - Vol. 82, Issue 4. - P. 1240-1246.
204. Zito, F. Epidemiological and genetic associations of activated factor XII concentration with factor VII activity, fibrinopeptide A concentration, and risk of coronary heart disease in men [Text] / F. Drummond, S.R. Bujac [et al.] // *Circulation.* - 2000. - Vol. 102, Issue 17. - P. 2058-2062.

205. Zito, F. Association of the factor XII46C> T polymorphism with risk of coronary heart disease (CHD) in the WOSCOPS study [Text] / F.Zito, G.D.Lowe, A. Rumley [et al.] // *Atherosclerosis*. – 2002. - Vol. 165, Issue 1.–P. 153-158.