

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
АСТРАХАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

ДЮКАРЕВА ОКСАНА СЕРГЕЕВНА

**ГЕМОСТАЗРЕГУЛИРУЮЩАЯ ФУНКЦИЯ ЛЕГКИХ В НОРМЕ И  
ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ  
СЕРОВОДОРОДСОДЕРЖАЩЕГО ГАЗА**  
(экспериментальное исследование)

03.03.01- физиология

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:  
доктор медицинских наук, профессор Н.Н. Тризно

Астрахань – 2019

## Содержание:

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	13
1.1 Мозаичность гемостатического потенциала в различных участках сосудистого русла .....	13
1.2. Нереспираторные функции легких .....	21
1.3 Антикоагулянты и антиагреганты.....	31
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	44
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	54
3.1. Исследование показателей перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы в ткани легких и тромбоцитах при хроническом воздействии ССГ в концентрации 70 мг/м <sup>3</sup> .....	54
3.2. Изучение изменений показателей системы гемостаза в аспекте артерио-венозной разницы на фоне хронического воздействия сероводородсодержащего газа .....	70
3.3. Морфологические изменения в ткани легких на фоне хронической ингаляции ССГ.....	75
3.4. Корреляционный анализ между показателями окислительно- метаболического, гемостазиологического и эндотоксемического статусами.....	82
3.5. Оценка эффективности применения корректирующих средств на компоненты антиоксидантной системы и параметры системы гемостаза при хроническом воздействии ССГ.....	86
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	90
ВЫВОДЫ .....	105
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	106
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	107

### Список принятых сокращений

АОС	антиоксидантная система
ВС	общее время свертывания
ДК	диеновые конъюгаты
ГОФП	гематоксилин — основной фуксин — пикриновая кислота
ИАП-1 -	ингибитор активации плазминогена – 1
ИАТ -	индуцированная агрегация тромбоцитов
МДА	малоновый диальдегид
МСМа	молекулы средней массы артериальной крови
МСМв	молекулы средней массы венозной крови
ПС -	система протеина С (С, S)
РФМК -	растворимые фибрин-мономерные комплексы
ССГ -	промышленный природный сероводородсодержащий газ Астраханского месторождения
СОД	супероксиддисмутаза
PLT -	количество тромбоцитов
ТФ -	тканевой фактор
ХIIa-ЭЛ -	ХIIa-зависимый эуглобулиновый лизис
АIII	антитромбин III

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

Влияние экологических факторов на развитие у человека бронхолегочной патологии год от года возрастает. Судя по многочисленным публикациям, многие регионы нашей страны находятся в состоянии экологического неблагополучия (Слепцова А.И. с соавт., 2017; Игнатова Г.Л., Захарова И.А., 2014; Измеров Н.Ф., 2012, 2011; Гичев Ю.П., 2003). Показано, что до 40% населения России проживает в условиях агрессивного воздействия воздушных ксенобиотиков (Бойко В.И. с соавт., 2017; Ярыга В.В. с соавт., 2017; Большаков В.В. с соавт. 2014; Лазько А.Е., Ярошинская А.П., 2008). Особенно опасным является воздух промышленных зон экологически неблагополучных производств (Гильмутдинова Ф.Г. с соавт., 2017; Симонова И.Н. с соавт., 2013; Агаджанян Н. А., Нотова С.В., 2009; Chen Y et al., 2018).

Организм человека имеет достаточно мощную защиту от воздействия ксенобиотиков, в том числе - и по обезвреживанию токсикантов. Механизмы детоксикации включают процессы биотрансформации поллютантов, процессы конъюгации, антирадикальной и антиперекисной защиты (Байбурина Г.А., 2016; Lin C.K., 2018; Shefa U. et al., 2018; Skrzep-Poloczek B. et al., 2017; Ferreira M.C. et al., 2017; Amir Aslani B. et al., 2016; Dizdaroglu M. et al., 2015). Хотя в основе своей эти механизмы имеют защитный характер, однако, в ряде случаев, они могут играть и отрицательную роль. Это связано с тем, что происходящие запредельные изменения в окружающей среде зачастую превышают адаптационные возможности организма и, в конечном итоге, приводят к их срыву (Сетко А.Г., Сетко Н.П., 2018; Горева О.Б. с соавт., 2017; Зеленко А.В. с соавт., 2017; Могиленкова Л.А., Рембовский В.Р., 2016; Enami S. et al., 2018; Krabbe J. et al., 2018).

Изучение хронического влияния производственных факторов серосодержащих компонентов на формирование экологически

детерминированных заболеваний – является одной из актуальных проблем современности. Вопреки существующим представлениям о том, что газообразные поллютанты не повреждают легочные тканевые структуры за счет их быстрого перехода в кровь, большинство исследований доказывают обратное (Боков Д.А. с соавт., 2015; Сурин М.В., 2014; Новиков Н.Ю. с соавт., 2012; Dietrich A. et al., 2017; Slattery K. et al., 2015).

В течение последних десятилетий опубликовано множество экспериментальных и клинических работ, посвященных изучению негазообменной функции легких. Доказано, что легкие помимо основной газообменной функции выполняют немаловажные по своей значимости метаболические функции (Wang J. et al., 2017; Caraher E.J. et al., 2017; Wellman T.J. et al., 2016; Park E.J et al., 2016). К ним относятся: детоксикация, инактивация биологически активных веществ, участие в белковом, жировом и углеводном обменах, регуляция кислотно-основного, водно-электролитного балансов, функция поддержания гемостазиологического баланса между малым и большим кругами кровообращения, задерживая активированные тромбоциты и повышая фибринолитическую активность оттекающей от них крови и др. (Амонова Ш.Ш. с соавт., 2016; Мурадов А.М. с соавт., 2015; Абатуров А.Е. с соавт., 2015; Порушничак Д.Е., 2013; Кароли Н. А., 2009; Амонова Ш.Ш., 2002; Федосеев Г. Б., 2006; Hsin M.K. et al., 2018; Webb E. et al., 2016). Вместе с тем, до сих пор нет достаточной информации о функции легких в регуляции гемостаза при воздействии токсических поллютантов, что значительно затрудняет разработку принципов профилактики и целенаправленной терапии с целью коррекции метаболических процессов на уровне различных звеньев гемостаза.

Отсутствие практически сведений для углубленного изучения эфферентной роли легких в регуляции защитно-приспособительных систем крови во взаимосвязях с условиями экологической обстановки, а так же необходимость

разработки путей фармакологической коррекции при данных состояниях и определяет актуальность нашей работы.

Данная работа является продолжением гранта ГК № 16.740.11.0610 «Экспериментальная оценка биологических и возможных фармакологических свойств биологически устойчивых ДНК аптамеров (ингибиторов) тромбина» (шифр «2011-1.3.1-141-005») от 31.05.2011 года по направлению «Фундаментальная медицина и физиология» Федеральной Целевой Программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России».

### **Степень разработанности темы исследования**

Взаимосвязь заболеваний бронхо-легочной системы и активация процессов липопероксидации интересует в последнее время многих исследователей (Лоскутова Е.В. с соавт., 2017; Провоторов В.М. с соавт., 2015; Ермолаева Е.Н. с соавт., 2014; Пащенко И.Г. с соавт., 2011). Особенно, учитывая возможность легочного эндотелия проявлять фильтрационно-синтетические функции по отношению к компонентам крови, поддерживая гемостатический баланс (Васина Л.В. с соавт., 2017; Соловьева А.Г. с соавт., 2016). В условиях роста содержания воздушных поллютантов научный интерес представляют последствия повреждения аэро-гематического барьера в первую очередь и гемостазиологический дисбаланс — во вторую (Bijli K.M. et al., 2016). В научной литературе представлены работы по изучению действия сероводородсодержащего газа *in vivo*, указывающие на дисрегуляцию сердечно-сосудистой системы (Радайкина О.Г. с соавт., 2018; Котюжинская С.Г. с соавт., 2018; Patel V.V. et al., 2015; Мусатов О.В. с соавт., 2014; Ярошинская А.П., 2011). В ряде работ были отмечены структурные изменения в эндотелии легких крыс при хроническом воздействии сероводородсодержащего газа (Голубкина Е.В., 2018; Шишкина Т.А., 2009; Тризно Н.Н., Шишкина Т.А., 2007). Имеются единичные сведения о реакции системы гемостаза на введение доноров HS-аниона *in vitro* (Sebová M. et al., 2016; Huang S. et al., 2015; Kimura H., 2014). Вместе с тем, анализ состояния системы гемостаза в совокупности с

детоксикационной функцией легких в хроническом эксперименте при ингаляции природного сероводородсодержащего газа имеет важное прогностическое значение для своевременной комплексной оценки и коррекции этих повреждений на ранних стадиях.

### **Цель исследования**

Изучить взаимосвязь метаболической активности легочной ткани и параметров системы гемостаза на разных сроках воздействия сероводородсодержащего газа.

### **Задачи исследования**

1. Выявить общую закономерность нарушений метаболических функций легких (соотношение уровня пероксидации и антиоксидантной защиты) при хроническом воздействии сероводородсодержащего газа.

2. Определить нарушения детоксикационной функции легких (интегративный показатель эндотоксикоза) при хроническом воздействии сероводородсодержащего газа.

3. Выявить изменения на уровне показателей системы гемостаза и определить возможную взаимосвязь с нарушениями функционирования легких при хроническом воздействии сероводородсодержащего газа.

4. Определить морфологические изменения в структурах легочной ткани у лабораторных животных в разные сроки хронического воздействия сероводородсодержащего газа (один, два, три и четыре месяца).

5. Выявить корреляционные связи активности антиоксидантной системы, уровней перекисного окисления липидов в легочной ткани и тромбоцитах, параметров системы гемостаза с интегративным показателем нарушенного метаболизма (уровня эндогенной интоксикации) в артериальной и венозной крови при хроническом воздействии ССГ.

6. Оценить возможность применения ДНК-аптамера ингибитора тромбина и дипиридамола с корригирующей целью на показатели коагуляционного и сосудисто-тромбоцитарный гемостаза при хроническом воздействии ССГ.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. В течение длительного периода воздействия ССГ имеют место существенные сдвиги основных показателей ПОЛ и АОС, выражающиеся в повышении содержания в тромбоцитах и в легочной ткани первичных и вторичных продуктов пероксидации, снижении активности антиоксидантных ферментов.

2. С увеличением времени хронического воздействия сероводородсодержащего газа метаболическая (детоксикационная) функция легких нарушается.

3. По мере продолжения ингаляционного периода воздействия ССГ отмечается четкая взаимосвязь нарушений показателей системы гемостаза с активностью эндотелия легких.

4. К концу экспериментального периода воздействия ССГ морфологические нарушения легочной ткани нарастают: формируются деструктивные изменения бронхов, эндотелия и периваскулярного пространства, инфильтрация клетками лимфоцитарно-макрофагального ряда.

4. Включение антиагреганта дипиридамола и антикоагулянта ДНК — аптамера ингибитора тромбина в комплексную коррекцию ССГ оказывает положительный эффект на показатели системы гемостаза и сопровождается тенденцией к более быстрой нормализации показателей ПОЛ и АОС в тромбоцитах и легких.



### Научно-практическая значимость

Работа носит фундаментальный характер и содержит новые сведения о функциональных нарушениях состояния различных звеньев гемостаза (тромбоцитарного, плазменного и сосудистого) в артерио-венозном русле на фоне длительного воздействия сероводородсодержащего газа (ССГ). Представлены данные, характеризующие метаболические и морфологические изменения эндотелия легочной системы в процессе хронической ингаляции ССГ. Практическая значимость работы заключается в рассмотрении экологически обусловленной дисфункции системы гемостаза и дыхательной системы с позиций оценки нереспираторных функций легких, что позволит объяснить некоторые диагностические и клинические проявления заболеваний органов дыхательной системы и нарушений системы гемостаза при воздействии эндогенных и экзогенных негативных факторов. Предложенный тактический подход является адекватным теоретическим пособием в выборе метода коррекции. Исследуемые в работе параметры могут быть использованы для ранней диагностики нарушений системы гемостаза и своевременной их коррекции.

Оценка влияния ДНК-аптамеров ингибиторов тромбина может рассматриваться как одна из базисных основ для проведения доклинических и клинических испытаний этой группы препаратов с целью их дальнейшего использования в клинике для коррекции нарушений свертываемости крови. Положительная динамика таких физиологических констант, как тромбоцитарная активность и антиоксидантная защита подчеркивает физиологические мишени действия сероводородсодержащего газа, выявляемые от применения антиагреганта дипиридамола. Основным механизмом, активируемым при хроническом воздействии сероводородсодержащего газа является нарастание продуктов незавершенного метаболизма, фильтрационно-синтетических нарушений в работе легких и дисбаланс системы гемостаза впоследствии.

### **Научная новизна исследования**

Изучены особенности нарушений компонентов плазменного, тромбоцитарного и сосудистого звеньев гемостаза в сосудах малого и большого кругов кровообращения в динамике на фоне хронического воздействия ССГ. Установлено, что в условиях хронического воздействия ССГ нарастает содержание продуктов липопероксидации, дезадаптивного протеолиза, склонность к тромбообразованию. Выявлено, что артерио-венозная разница гематологических показателей отражает нарушения в работе легких, а именно: синтетической и фильтрационной. Дано морфологическое представление изменений структуры ткани легких (микроциркуляторного русла и аэрогематического барьера) на разных сроках ингаляции сероводородсодержащего газа. Доказана гемостазрегулирующая роль эндотелия легких, при повреждении которой происходят нарушения всех звеньев гемостаза.

Впервые исследована возможность коррекции возникших изменений компонентов системы гемостаза с помощью дипиридамола и ДНК-аптамера ингибитора тромбина (RE-31).

### **Методология и методы**

В соответствии с поставленными задачами были определены современные лабораторные методы исследования системы гемостаза, которые выполнялись на кафедре патологической физиологии, химии фармацевтического факультета и гистологии ФГБОУ ВО Астраханский государственный медицинский университет Минздрава РФ.

В крови определяли следующие показатели, характеризующие:

- состояние антиоксидантной системы (каталазы, супероксиддисмутазы) и интенсивности процессов липопероксидации (содержание диеновых конъюгатов малонового альдегида) в легких и тромбоцитах;

- состояние эндотелия сосудов (активность фактора Виллебранда, ингибитора активатора плазминогена — 1);
- функциональную активность параметров системы гемостаза в аспекте артерио — венозной разницы (число и агрегационная способность пластинок крови, общее время свертывания, РФМК, D – димера, фVIII, протеина С, антитромбина III, плазминогена, XIIa — зависимого фибринолиза);
- уровень токсемии (содержание молекул средней массы);
- морфологическая характеристика легочной ткани.

Все полученные данные подвергались корреляционному анализу и статистической обработке. Графические данные представлены в виде показателей аппроксимации.

### **Апробация работы**

Результаты работы доложены и обсуждены: на Всероссийской заочной научно-практической конференции «Актуальные проблемы патофизиологии: теоретические и клинические аспекты» и Летнем медицинском интернет-форуме - 2016; на Всероссийской научно - практической конференции с международным участием «Фармакология разных стран» - Курск 2017; на научных конференциях профессорско – преподавательского состава ФГБОУ ВО «Астраханский ГМУ» Минздрава РФ - Астрахань 2015 — 2017гг. на 9 международном научно-практическом конгрессе IMSCNS (9<sup>th</sup> INTERNATIONAL MEDICAL STUDENT'S CONGRESS IN NOVI SAD) (Сербия, г. Нови — Сад, 17 — 20 июля 2014).

### **Личное участие автора**

Автором поставлены задачи, определены научные положения и сформулированы выводы исследования. Вся экспериментальная часть работы и интерпретация результатов проведены автором самостоятельно.

### **Публикации**

Основные результаты работы опубликованы в виде 18 научных статей, 4 из которых изложены на страницах изданий, рекомендованных ВАК РФ, 1 — SCOPUS.

### **Объём и структура диссертации**

Диссертационная работа изложена на 144 страницах. Построена по классическому принципу, включая введение, обзор литературы, описание материалов и методов работы, собственные исследования, обсуждения результатов исследования, выводов и список использованных литературных источников. Работа иллюстрирована 10 таблицами, 23 рисунками.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Мозаичность гемостатического потенциала в сосудистом русле

Процессы, происходящие в организме, постоянно находятся в динамическом равновесии друг с другом. Нарушение этого равновесия приводит к дисбалансу и нарушению гомеостаза. Регуляция функций биологических систем носит агонист-антагонистический характер (Парахонский А.П., 2013, 2004). Это необходимо для стабилизации системы и ее адаптации к изменяющимся условиям (Цейликман Э.В. с соавт., 2008). Если система истощена воздействием патогенного фактора, ее равновесие нарушается (Москалева Е.Ю., Северин И.Н., 2006). Регуляция системы гемостаза имеет аналогичный принцип взаимоотношений (Атауллаханов Ф.И. с соавт., 2008; Мchedlishvili Г.И., 1989). Поддержание крови в жидком состоянии и сохранность ее в рамках сосудистого русла в норме также определяются равновесием систем, с одной стороны, отвечающих за тромбообразование, с другой — за текучесть крови (Афанасьев Б.В. с соавт. 2011; Кузник Б.И., 2010; Chen J. et al., 2016). Это равновесие поддерживается посредством взаимодействия пяти основных компонентов системы гемостаза: с одной стороны — коагуляционного каскада (система свертывания), тромбоцитов, сосудистой стенки, с другой — противосвертывающих механизмов и системы фибринолиза (Папаян Л.П., Папаян К.А., 2016; Добровольский А.Б., Титаева Е.В., 2013; Цушко В.С. с соавт., 1982; Pich A. et al., 2017).

Субмолекулярный уровень организации системы обеспечивается физико-химическими законами, трансформирующими элементы неорганики в макромолекулы живой природы. Конечный результат - организация макромолекул с такими физико-химическими свойствами, которые наиболее полно отвечали бы их биологической предназначенности, т. е. способности осуществлять функцию свертывания и противосвертывания, зарождают гемостатический потенциал (Мартьянов А.А. с соавт., 2018; Котова Я.Н. с соавт., 2009).

Молекулярный уровень организации суперсистемы РАСК обеспечивается механизмами физико-химического взаимодействия биохимических элементов, в результате чего зарождается биологическая функция, определяемая как «функция свертывания», «функция противосвертывания» (Кузик Б.И., 2010; Пантелеев М.А., Атауллаханов Ф.И., 2008).

Основная масса факторов свертывания при физиологических значениях рН обладает относительно щелочными свойствами, гепарин - кислотными, что обеспечивает биологическую полипотентность этого мощного физиологического антикоагулянта. В параметрах рН среды отличных от физиологических значений, антикоагулянтный эффект гепарина существенно снижается (Альфонсова Е.В., 2013; Альфонсов В.В. с соавт. 2010; Ульянов А.М. с соавт., 2004). В каждом отдельном случае биологическая эффективность гепарина в определенной степени зависит от его физико-химических свойств, т. е. от результата фиксированной организованности его элементов. Изменение количества, качества, свойств, характера взаимодействия таких субъединиц в той или иной степени отразится на конечных биологических свойствах молекулы гепарина как целостного объекта, что проявится нарушением «физиологичности» его зависимости от рН крови, его способности к комплексообразованию и антикоагулянтному действию и, в конечном итоге, на характеристиках гемостатического потенциала (Самородов А.В. с соавт., 2016, 2015; Камилов Ф.Х. и соавт. 2013).

Сам по себе гепарин не есть «антикоагулянт» - это кислый мукополисахарид с определенными физико-химическими свойствами. Биологическая функция противостояния свертыванию возникает вследствие химического взаимодействия его молекул с молекулами свертывающего (образование комплексных соединений с различными прокоагулянтами) или противосвертывающего (с антитромбином III) потенциала (Солиев А.У., Собиров Ш., 2017; Портнягина Е.В., 2011). Такое взаимодействие возможно только при наличии соответствующих условий -

адекватного физико-химического состояния вступающих во взаимодействие молекул и окружающей среды. Такие условия в свою очередь организуются целым рядом физико-химических параметров. Так, например, образование комплексов с фибриногеном - реакция экзотермическая, фибринолиз же - реакция эндотермическая стремление к сохранению стационарных термодинамических параметров может явиться аргументом проявления фибринолитической активности комплексами фибриногена в случае их образования (Кузник Б.И., 2009).

Физико-химические свойства фибриногена определяют его коагуляционные свойства. Многие физические и химические воздействия (температура, у-излучение, ультразвук и т. д.), модифицируя отдельные элементы внутренней структуры молекулы фибриногена, лишают ее способности коагулировать под действием тромбина, т. е. выполнять биологическую предназначенность реализации конечного действия гемостатического потенциала (Аксенова И. З. с соавт., 2015; Зубаиров Д. М., 2008; Мищенко В.П., Мищенко С.В., 2003; Зубаиров Д. М., 2000).

Образование фибрина из фибриногена сопровождается высвобождением ионов водорода и подкислением среды (Mihalyi и Billick), что, как говорилось выше, подавляет антикоагулянтную активность гепарина (Панова И.Г. с соавт. 2015; Альфонсова Е.В., 2013; Альфонсов В.В. с соавт. 2010). Возникает биологический эффект, в какой-то степени проявляющийся изменением гемостатического потенциала организма в целом (Портнягина Е.В., 2011).

В дальнейшем качестве целостных систем выступают отдельные фазы плазмокоагуляции, организованность и функциональная полноценность зависит от функциональной полноценности систем предыдущих уровней (Афанасьев Б.В., 2011).

Конечным результатом 1-й фазы свертывания является протромбиназа, Конечный результат 2-й фазы - тромбин, входящий сигнал - протромбиназа,

элементами внутренней структуры выступают протромбиновый комплекс, антитромбины, антитромбопластины, гепарин, а,-макроглобулин. Конечный результат 3-й фазы - фибрин, входящий сигнал-тромбин, элементы структуры - фибриноген, гепарин, ингибиторы полимеризации фибрин-мономеров, продукты деградации фибриногена и фибрина (ПДФ) (Канева В.Н. с соавт. 2019; Ramsay MA., Trotter JF., 2016). Заключительный результат послефазы - различные ПДФ, входящий сигнал - фибрин, элементы структуры - плазминоген, его активаторы и ингибиторы. Унифицированным конечным результатом систем этого уровня является осуществление или предупреждение активации проферментов, способных осуществить фибринообразование (Свешникова А.Н. с соавт., 2018; Кузник Б. И., 2010; Hemker H. C. et al., 2006).

Клеточный уровень организации суперсистемы гемостаза - система плазмокоагуляции. Конечным результатом системы является осуществление или предупреждение плазмокоагуляции. Достижение этого конечного результата зависит от функциональной полноценности ее составных элементов, диалектически объединяющих субъединицы про- и анти-коагулянтной направленности действия (совокупно организующих про- и антикоагулянтный потенциалы) а так же от регуляторного воздействия самой системы (Никонов В.В. с соавт., 2019). Средствами регуляторного воздействия системы на свои элементы являются такие материальные действия, как вариирование точками сосредоточения их функциональной направленности и их ранговыми порядками, избирательной активацией одних элементов и подавлением функциональной активности других, упрочением функциональных связей между одними элементами и разрывом связи между другими и т. д. (Кузник Б.И., Максимова О.Г., 2007).

Традиционно принято считать, что в условиях выраженной хронической печеночной недостаточности превалирует геморрагический синдром. Но, по данным литературы, эта патология может приводить и к противоположному



эффекту, больные с печеночной недостаточностью рассматриваются как группа риска и по развитию тромбозов (Клычникова Е.В. с соавт., 2018; Морозов, Ю.А. с соавт., 2014). Причины развития гиперкоагуляции те же, точки приложения — различные: повреждение эндотелия и нарушение белково-синтетической функции (Кузник Б.И., 2010). Декомпенсированная печеночная недостаточность может сопровождаться снижением синтеза и развитием дефицита естественных антикоагулянтов: антитромбина III, протеина C, S (Матвиенко О.Ю. с соавт., 2018; Вагнер Ю.Н., Скворцова Л.А., 2018; Caldwell S. H. et al., 2006). У больных вирусным гепатитом А и микст-инфекцией в разгаре заболевания описано укорочение времени свертывания крови и рекальцификации, тромбинового времени, активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), повышение концентрации фибриногена, уменьшение уровня антитромбина III, удлинение протромбинового времени, усиление экспрессии тканевого фактора лейкоцитами, что усугубляет явления гиперкоагуляции (Дорохов Н.А. с соавт. 2017; Власов А.П. с соавт., 2017; Буланова Е.Л., 2012; Бгане Н.М. с соавт., 2012; Локтионова И.Л. с соавт. 2012; Морозов Ю.А. с соавт., 2012; Idell S. et al., 2017; Chen J., 2012; Tripodi A., 2008).

Действенным средством передачи регуляторной информации выступают отдельные факторы свертывания и противосвертывания, обладающие аутокаталитическими свойствами и служащие триггерами, связывающими отдельные звенья в единый целенаправленный процесс (Чечулова А.В. с соавт., 2018; Папаян Л.П. с соавт., 2017, 2015). Так, тромбин аутокаталитически стимулирует функцию 1-й фазы плазмокоагуляции и одновременно активирует плазминогенез, тем самым параллельно активируя как свертывающий, так и противосвертывающий потенциал. Теми же свойствами обладает и активированный фактор XII (фактор XIIa), который не только «запускает» цепь ферментативных реакций тромбинообразования и последующего фибринообразования, но параллельно активирует плазминогенез (Fukuda S. et al.,

2018). Образующийся плазмин не только расщепляет фибрин, но активирует факторы XII и VII, тем самым активируя условия плазмокоагуляции как по внешнему, так и по внутреннему пути гемостаза, существенно изменяя гемостатический потенциал крови за счет актуализации диалектичности отношений его про- и антикоагулянтных звеньев (Челушкин А.М. с соавт., 2017; Зубаиров Д.М., Зубаирова Л.Д., 2009; Кузник Б.И., Максимова О.Г., 2007; Шитикова А.С., 2000; Otaki Y. et al., 2016; Wang S.J. et al., 2015).

Наряду с этим триггерные свойства тромбина, фактор XIIa, плазмина способствуют взаимосвязи процессов плазмокоагуляции с системой клеточных элементов крови и организации следующего структурного горизонта - тканевого уровня суперсистемы гемостаза (системы гемокоагуляции). Конечный результат - предупреждение коагуляции крови в физиологических условиях существования организма и сохранение потенциальных возможностей к осуществлению коагуляции в патологических ситуациях (Wang S.J. et al., 2018; Hemker, H.C., et al. 2006)

Все форменные элементы крови оказывают то или иное воздействие на процессы гемокоагуляции, но ведущее значение в этом плане имеют тромбоциты, содержащие ряд факторов, функционально аналогичных плазменным факторам свертывания и противосвертывания (Полохов Д.М. с соавт., 2018; Кутафина Н.В., Завалишина С.Ю., 2012; Lincoff A.M et al., 2016). Тромбоцитарный фактор P3 принимает участие в 1-й и 2-й фазах плазмокоагуляции в качестве поверхности, на которой упорядоченно располагаются плазменные факторы, что способствует их активации (Зубаиров Д.М., Зубаирова Л.Д., 2009). Аналогичной функцией обладают обломки мембран эритроцитов, кефалин и некоторые другие белково-липидные комплексы, образующиеся при цитолизе (Amiral J., Seghatchian J., 2019).

Тромбин усиливает агрегацию тромбоцитов и освобождение их содержимого посредством коагуляции адсорбированного на их поверхности фибриноподобного

вещества (P3), а также усилением метаболизма арахидоновой кислоты, служащей исходным материалом для синтеза простагландинов  $E_1$  и  $F_2$  альфа - мощных тромбоцитагрегирующих агентов (Силина Н.Н. с соавт., 2018; Гильцер И.В с соавт., 2018; Добровольский А.Б., Титаева Е.В., 2013; Lee, S.H. et al., 2017). Тогда связь между клеточными и ферментативными звеньями системы становится более жесткой, обеспечивая единую целенаправленность многочисленных процессов, предшествующих фибринообразованию.

Тромбин и фактор XIIa активируют системы пропердина и комплемента (последнюю по классическому пути через C1). Первым компонентом комплемента (C1) обогащена мембрана тромбоцитов. Активируя его, тромбин и фактор XIIa усиливают агрегацию и реакции освобождения тромбоцитарных факторов (Корсакова Н.Е. с соавт., 2017). Плазмин активирует систему комплемента по альтернативному пути (через C3). Все это интенсифицирует поступление в кровотоки функционально активных веществ как эндогенного (освобождающихся из форменных элементов крови), так и экзогенного (с тканей сосудов и питаемых ими органов) происхождения; последние - за счет вовлечения в процесс возбуждения функциональной иммунной системы, инициируемого активированными системами комплемента и пропердина (Christie J.D. et al., 2007; Kireev A. et al., 2007).

Через фактор XIIa, тромбин, плазмин, а также посредством общих элементов - факторов Флетчера (прекалликреин) и Фицджеральда (высокомолекулярный кининоген) - возбуждение с системы гемокоагуляции передается на калликреин-кининовую систему, вызывая изменение проницаемости сосудов, интенсификацию цитолитических процессов, экстра-интравазальное перераспределение веществ, болевой синдром и стресс-реакцию внутреннего генеза (Nielsen V.G., Frank N., 2019). По общим нейрогормональным механизмам формирования стресс-реакций - гипоталамус - гипофиз - железы мишени- исполнительные органы (Шахматов И. И., 2011; Шиффман Ф. Дж., 2000;

Белоусова О.И. с соавт., 1979; De Luca C. et al., 2017) момент возбуждения гемостатических функций реализуется изменением нейрогормонального статуса и функциональной активности органов - продуцентов факторов про и антикоагуляции (печень, селезенка, костный мозг и т. д.) (Tatsumi K. et al., 2012; Kuznik B.I., 2010; Welter H. et al., 1980), адаптивной перестройкой механизмов кровообращения, что в конечном счете скажется соответствующим изменением проницаемости сосудистой стенки, динамики кровотока и экстра-интравазальным перераспределением веществ (Амонова Ш.Ш. с соавт., 2016; Popova A.A. et al., 2010). Система гемокоагуляции, состояние проницаемости сосудистой стенки и динамика кровотока (триада Вирхова) в совокупности организуют следующий органный уровень организации суперсистемы гемостаза, выступающий органом - мишенью регуляторной информации организма в целом (гомеостаза) Вопрос об инициации венозного тромба при отсутствии анатомического нарушения целостности сосуда остается открытым (Солун М. Н., 2011; Levi M., 2018; Ten Cate H. et al., 2017). Предположительно тканевой фактор с прикрепленными микровезикулами, появляющийся из клеток моноцитарно-макрофагальной линии, может присоединяться к активированным эндотелиальным клеткам в области сосудистой активации или воспаления и инициировать свертывание крови (Корсакова Н.Е. с соавт., 2018; Кузник Б.И., Цыбиков Н.Н., 2005; Delabranche, X. et al., 2017; Rauova, L. et al., 2009). Ключевые компоненты этой модели включают связь между тканевым фактором с микровезикулами и активированным эндотелием через гликопротеиновый лиганд-1Р-селектина на их поверхности к Р-селектину или Е-селектину на эндотелии и роль гипоксии в процессе стаза крови в инициации локальной активации эндотелия (Челушкин А. М. с соавт., 2017; Мамаева М.Г. с соавт., 2014; Amiral J. et al., 2019). Повышение уровня тканевого фактора, несущего микровезикулы и ассоциированного с воспалением, может объяснять увеличение риска тромбозов при инфекциях и воспалении (Клычникова Е.В. с соавт., 2018; Каминская О.Г. с соавт. 2012; Arneth B., 2019).

Важнейшим каналом движения информации между подсистемами является сосудистая стенка и динамика кровотока, контролируемые и оптимизируемые нейрогормональными механизмами - высшими корригирующими системами организма, организующими гомеостаз в целом. (Киричук В.Ф. с соавт., 2015). Таким образом, суперсистема гемостаза представляет собой целостную совокупность биологических структур, обеспечивающих жидкое состояние крови в условиях диалектического единства внешней и внутренней сред организма с одновременным сохранением потенциальной возможности к коагуляции крови в случае нарушения такого единства и актуализации противоречий. Иерархичность структуры суперсистемы обеспечивается организованностью ее подструктур в целостные объекты в соответствии с принципами совместимости и целенаправленности их элементов.

Таким образом, направление гемостатического потенциала - величина динамическая, зависящая от сложившегося в кровотоке соотношения свертывающего и противосвертывающего компонентов и специфических особенностей регионарных механизмов обеспечения их диалектического единства (Otake Y. et al., 2016; Wang S.J. et al., 2015). Как величина векторная гемостатический потенциал различных регионов кровотока мозаичен (Амонова Ш.Ш. с соавт., 2017; Порушничак Д.Е., 2013; Гаврилов О.К., 1982; Oosterhoff L.A. et al., 2019). Нарушения мозаики регионарных величин гемостатического потенциала и его функциональной направленности свидетельствует о нарушении физиологичности суперсистемы гемостаза.

## **1.2. Нереспираторные функции легких**

Большое количество научных статей позволяет говорить о легких не только как об органе, обеспечивающим газообмен, но и их метаболической активности. Многочисленные экспериментальные и клинические данные говорят об участии легких в различных обменах веществ: жировом, липидном, углеводном, белковом обменах. Кроме того легкие оказывают большое влияние на поддержание

температурного баланса организма, инактивацию и синтез биологически активных веществ, поддержание жидкого состояния крови как в экспериментальных исследованиях, так и в клинических наблюдениях при различной патологии: (Богородский А.Ю. с соавт., 2018; Дьякова М.Е. с соавт., 2016; Богородский А.Ю., Садчиков Д.В., 2016; Дорохов Н.А. с соавт., 2016; Лукина С.А. с соавт., 2016; Калиматова Д.М., Шутанова Е.П., 2015; Егорова В.В. с соавт., 2015; Заболотских И.Б. с соавт., 2014; Уракова М.А., Брындина И.Г., 2014; Ахминеева А.Х. с соавт., 2014; Изтлеуов М.К. с соавт., 2013; Рывкин А.И. с соавт., 2013; Каминская О.Г. с соавт., 2012; Зеулина Е.Е. с соавт., 2012; Христич Т.М. с соавт., 2012; Нургалеева Е.А. с соавт., 2011; Шпагина, Л.А. с соавт., 2009; Федоренко А. А., 2007; Нестеров Ю.В., 2003; Мурадов А.М. 2000; Симбирцев С.А. 1992; Сыромятникова Н.В., Гончарова В.И. 1991; Шур В.Ю., 1989; Симбирцев С. А., Беляков Н. А., 1986; Atalan Н.К. et al., 2015; Camerer E. et al, 2006; Ware L.V. et al, 2005).

Легкие, находясь на границе большого и малого кругов кровообращения, несомненно, имеют отношение к регуляции гемостаза в организме (Заболотских И.Б. с соавт., 2013). О влиянии легких на регуляцию свертываемости крови указал И.П.Павлов еще в 1887 г., так кровь, прошедшая через малый круг кровообращения, оставалась жидкой в течение 3ч. В развитии синдрома эндотоксикоза определенную роль играет нарушение барьерной функции легких в отношении биологически активных веществ, ферментов свертывающей, противосвертывающей и фибринолитической систем (Белькова Т.Ю., 2012). Биологически активные вещества и медиаторы (кинины, простагландины и др.) являются «местными» гормонами, т.к. практически полностью инактивируются в легких. (Мамаева М.Г. с соавт., 2014; Багдатьяев В.Е. соавт., 1991; Сыромятникова Н.В. с соавт., 1987; Дубилей П.В. с соавт. 1987; Горст Н.А., 1983; Chen W.M. et al, 2017; Chen J. et al, 2016; Meng J.V. et al, 2016).

Сосудистой системой легких в значительной степени обеспечиваются нереспираторные их функции и, в частности, способность регулировать уровень ряда веществ, циркулирующих в крови. Участие эндотелия микрососудистой сети легких в метаболизме многогранно: инактивация серотонина и норадреналина, превращение ангиотензина-1 в ангиотензин-2, синтез факторов свертывания крови, синтез интерлейкинов и др. (Кароли Н.А., Ребров А.П. 2009; Федосеев Г.Б., Трофимов В.И. 2006; Гологорский В.А., соавт 1992; Гончарова В.А., Сыромятникова Н.В., Гончарова В.И., 1991).

Происходящие при воспалительных процессах изменения в легких на клеточном и субклеточном уровнях оказывают существенное влияние на реологические свойства крови, а через нарушенный обмен биологически активных веществ и гормонов - на регуляцию органного и системного кровотока (Чернеховская Н.Е., 2005; Амонова Ш.Ш., 2002).

Миграция клеток воспаления (нейтрофилов, эозинофилов, лимфоцитов) из кровеносного русла в очаг бронхолегочного воспаления происходит за счет повышенной экспрессии специфических молекул адгезии в эндотелиальных клетках посткапиллярных венул. К ним относятся E-селектин, внутриклеточная молекула адгезии-1 (ICAM) и молекула адгезии клетки сосуда-1 (VCAM-1). Под влиянием медиаторов и цитокинов происходит нарушение регуляции взаимодействия этих молекул с лейкоцитами, создаются условия для приближения циркулирующих клеток к стенкам посткапиллярных венул, пенетрации через них и дальнейшей миграции в слизистую (Барабаш Р.Я., Макаров И.Ю., 2018; Федосеев Г.Б., Трофимов В.И., 2006).

Особое значение для реологического состояния крови играют агрегационные свойства форменных элементов крови. У больных бронхиальной астмой наблюдается тесная связь между увеличением вязкости крови и способностью эритроцитов к агрегации за счет значительного увеличения количества грубодисперстных положительно заряженных белков (фибриногена, С-

реактивного белка, глобулинов), что в сочетании с уменьшением числа отрицательно заряженных альбуминов обуславливает изменение гемoeлектрического статуса крови. (Де Сильва Н.М. с соавт., 2015; Трофимов В.И. с соавт., 2014).

Роль агрегации тромбоцитов имеет также существенное значение для изменений сосудистого тонуса и формирования бронхоспастического синдрома, образуя микротромбы и микроэмболы. В результате необратимой агрегации и адгезии наступает “вязкий метаморфоз” тромбоцитов, в микрогемоециркуляторное русло выбрасываются различные биологически активные субстраты, что служит пусковым механизмом процесса хронического внутрисосудистого микросвертывания крови, который сопровождается усиленным формированием фибрина и тромбоцитарных агрегатов.

Показано, что проагрегантная активность тромбоцитов пропорциональна концентрации в них продуктов липопероксидации (Ермолаева Е.Н. с соавт., 2014; Бышевский К.Я. с соавт., 2007). О зависимости между свободнорадикальными процессами и коагуляционной активностью тромбоцитов свидетельствуют и следующие данные: наличие обратной зависимости между агрегацией тромбоцитов и концентрацией селена в плазме; внесение глутатионпероксидазы во взвесь тромбоцитов тормозит арахидонатзависимое образование МДА и тромбоксана;  $H_2O_2$  ускоряет АДФ, тромбин- и коллаген- агрегацию; антиоксиданты тормозят синтез МДА в тромбоцитах (Джандоева А.А. с соавт., 2017; Владимиров Ю.А. 1989).

Связь между тромбинемией и активацией свободнорадикальных процессов обеспечивают тромбоциты и эндотелиоциты. Агрегация тромбоцитов сопряжена с липопероксидацией - при стимуляции тромбином растет содержание МДА и других липоперекисей, ускоряется синтез Тх, падает антиоксидантный потенциал, что нарушает структуру мембран и приводит к высвобождению коагулоактивных факторов (Чеснокова, Н.П. с соавт., 2006; Ральченко И.В., 1999; Бышевский



А.Ш. с соавт., 1985).

Воспалительные повреждения легочной ткани обуславливают нарушения ее метаболических функций, которые не только непосредственно влияют на состояние микрогемодинамики, но и вызывают выраженные изменения гематогистологического обмена. У больных бронхиальной астмой выявлена прямая зависимость между повышением проницаемости капилляров и увеличением в кровеносном русле гистамина и серотонина. У этих больных отмечаются нарушения метаболизма липидов, глюкокортикоидов, кининов, простагландинов, что приводит к срыву механизмов клеточной и тканевой адаптации, изменению проницаемости и трофических расстройств (Сосновских И.В., Сеницын С.П., 2011).

Вследствие влияния таких факторов, как гипоксия, повышение содержания различных биологически активных веществ, складываются "благоприятные" условия для развития эндотелиальной дисфункции. Результатом воздействия оксида азота непосредственно на гладкомышечную клетку в месте повреждения эндотелия является вазоконстрикция, что прямо противоположно его физиологическому эффекту. Вазоконстрикция, в свою очередь, усугубляет гемостазиологическую дисфункцию эндотелиальной выстилки сосудов, что говорит о тесной взаимосвязи функционального состояния тромбоцитов и эндотелия (Кузнецова В.Л., Соловьева А.Г., 2015). В острую фазу заболевания выявлены отклонения параметров сосудисто-тромбоцитарного гемостаза, характеризующиеся ослаблением антитромбогенного потенциала, усилением необратимой агрегации кровяных пластинок, процессов липопероксидации, повышением внутриклеточного содержания биоминов, нитрат-ионов и увеличением жесткости цитомембран тромбоцитов, что косвенно отражает повышение коагуляционных свойств крови (Рывкин А. И. с соавт., 2013).

Основными участниками первичного, или тромбоцитарного гемостаза, являются тромбоциты, эндотелий и вещества, регулирующие активность этих клеток (Медвинский И.Д. с соавт., 2000). Достоверно выявлено влияние легких на сосудисто-тромбоцитарное звено гемостаза: количество тромбоцитов в оттекающей от легких крови достоверно меньше, чем в венозной (Батайкина В.В., 2000). Это свидетельствует о расходовании тромбоцитов для трофической поддержки эндотелия, эндогенной вазомоторики, а также участии их в формировании микротромбов в легких. В формировании микротромбоза наряду с тромбоцитами описаны секвестрация и апоптоз нейтрофилов в легких при микроэмболии и их взаимодействии с фибрином (Батайкина В.В., 2000; Тупеев И.Р., Гомазков О.А. 1984; Kuznik V.I., 2010).

Показано, что эндотелий легких играет основную роль в осуществлении регуляции жидкого состояния крови и может рассматриваться как "ловушка эмболов". Об этом свидетельствует участие эндотелия в синтезе и инактивации факторов свертывающей и противосвертывающей систем (Соколов Е.И. с соавт., 2013; Зубаиров Д.М., Зубаирова Л.Д., 2011; Симбирцев С.А., Беляков Н.А., 1986)

Установлено, что в легкие участвуют в регуляции калликреин-кининовой системы и являются местом синтеза простагландинов ( $E_2$ ,  $F_{2\alpha}$ ,  $D_2$ ,  $I_2$ ) и тромбоксана  $A_2$ , веществ, влияющих на агрегацию тромбоцитов и регулирующих сосудистый тонус. Здесь же происходит удаление 90% этих соединений, инактивирующихся внутриклеточными ферментами (Зильбер А.П., Шифман Е.М., 1997; Тупеев А.Г., Гомазков О.А., 1984). Нарушение соотношения между системами коагуляции, фибринолиза, калликреин-кининовой и ренин-ангиотензиновой при легочной патологии сопровождается повышенным кининогенезом, усиливающим процессы коагуляции и замедляющим фибринолиз (Умарходжаев Е.М., Линчевская А.А., 1987; Горст Н.А. 1983; Гончарова В.А. с соавт., 1980). Эндотелий легких способен синтезировать факторы как свертывающей (тромбопластин, фактор VII, фактор VIII), так и

противосвертывающей (гепарин) систем крови, активатор плазминогена и ингибиторы активатора плазминогена. Вместе с тем, легкие рассматриваются как коагулолитический фильтр, снижающий гемостатический потенциал и повышающий фибринолитическую активность крови. Указывается, что здоровые легкие снижают уровень концентрации фибриногена на 34% (Зильбер А.П., 2006; Сыромятникова Н.В. с соав., 1987) Легкие извлекают из кровотока не только фибрин, но и продукты его деградации (ПДФ), образующиеся при ДВС-синдроме. Однако в условиях паренхиматозного поражения легочной ткани эта способность легких нарушалась (Зильбер А.П., 2006; Грузман А.Б., с соавт., 1991; Гаврилов О.К. с соавт., 1982).

Отмечена взаимосвязь между продуктами гемокоагуляции, фибринолиза и газообменной функцией легких - растворимые комплексы мономеров фибрина и продукты деградации фибрина, коррелируют с развитием легочных осложнений и одновременно являются медиаторами повреждения легких.

Так, у больных с дыхательными осложнениями продукты деградации фибрина в венозной крови обнаруживали во всех случаях, и после прохождения крови через легкие их уровень оставался прежним. Количество фибриногена в оттекающей от легких крови в большинстве наблюдений оказалось выше, чем в венозной т.е, формирование в данной ситуации «порочного круга», легкие сами становились усугубляющим фактором нарушений гемостаза и дополнительным источником продуктов деградации (Гологорский В.А. с соавт., 1992; Deanfield J. 2011; Drexler H., 2009; Bick R.L., Fareed J. 1997).

Клинические исследования, проведенных тромботических эпизодов у онкологических больных и лежащие в основе развития синдрома Труссо (Trousseau A. 1865) описаны как первые симптомы скрыто протекающие и значительно опережающие проявления новообразования (Chaturvedi S. et al., 2014; Dammasco F. et al., 2013; Langer F., Vokemeyer C., 2012; Varki A., 2007).

Очаги воспаления, характерные для рака легких выделяют специфические муцины, являющиеся сайтами связывания для селектинов экспрессируются на активированных тромбоцитах и эндотелиальных клетках (P-селектин) и лейкоцитах (L-селектин). Одна часть муцинов утилизируется печенью, другая взаимодействует с P- и L-селектинами, сверхэкспрессию циклооксигеназы-2 (COX-2) и ингибитора активатора плазминогена-1 (PAI-1), запуская процесс микротромбообразования. (Claussen C. et al., 2014; Thaler J. et al., 2013; Lo L. et al., 2012).

Активация свертывания крови при злокачественных новообразованиях – сложный феномен, включающий множество компонентов системы коагуляции и многочисленные взаимодействия между опухолевыми клетками и клетками крови, включая тромбоциты, моноциты, эндотелиальные клетки (Claussen C. et al., 2014; Thaler J. et al., 2013; Fuchs T.A. et al., 2012).

Опухолевые клетки обладают разнообразием прокоагулянтных свойств, включая экспрессию клетками тканевого фактора (TF), секрецию цистеинового ракового прокоагулянта (CP), секрецию косвенных прокоагулянтных цитокинов, таких, как интерлейкины-1 и -8, фактор некроза опухоли (TNF) и сосудистый фактор роста эндотелия (VEGF) (Demers M., Wagner D.D., 2014; Thaler I. et al., 2013).

Они также активизируют тромбоциты и через экспрессию интегрин формируют адгезию тромбоцитов с эндотелием кровеносных сосудов. Под влиянием опухолевых клеток уменьшается секреция эндотелиальной клеткой тканевого активатора плазминогена (tPA) и экспрессии тромбомодулина (TM), увеличивается синтез ингибитора активатора плазминогена (PAI-1).

Опухолевые клетки экспрессируют: а) раковые прокоагулянты: TF – тканевой фактор, CP – цистеиновая протеаза; б) активаторы и ингибиторы фибринолиза, а также их рецепторы: u-PA – урокиназный активатор плазминогена, t-PA – тканевой активатор плазминогена, PAI – ингибитор

активатора плазминогена, u-PAR – рецепторы урокиназного активатора плазминогена; в) цитокины, активирующие прокоагулянтные свойства эндотелиоцитов: ИЛ-1, ФНО-а, VEGF. Синтезируемый на поверхности раковых клеток фибрин запускает коагуляционный каскад по классической схеме, что приводит к увеличению риска тромбоэмболических осложнений. (Воробьев А.В. с соавт., 2015; Макацария А.Д. с соавт, 2008; Kocatiirk B., Versteeg H.H., 2012). Кроме того ТФ поступает в кровь из субклеточных мембранных везикул, так называемых плазменных микрочастиц. Микрочастицы обычно обогащены прокоагулянтными отрицательно заряженными фосфолипидами и могут нести ТФ на своей поверхности (Geddings J.E., Mackman N., 2013).

Более того, в ряде случаев содержание плазминогена и его активаторов может снижаться. Одной из вероятных причин разнонаправленных изменений фибринолиза, по мнению автора, является различное течение ДВС-синдрома. По ТЭГ в легочной вене определялась гипокоагуляция с переходом в фибринолиз; в легочной артерии гиперкоагуляция, что может быть связано с повышенным содержанием активаторов плазминогена и сниженным уровнем ингибиторов фибринолиза (Гаврилов О.К. с соавт., 1982). Вероятно, в различных ситуациях легкие могут, как усиливать фибринолитическую активность, так и подавлять ее. Под влиянием различных факторов вначале происходит активация фибринолитической системы, что приводит со временем к истощению фибринолиза. Кроме того, повреждение эндотелия под влиянием провоспалительных цитокинов (РДСВ, травме, эндогенной интоксикации) происходит высвобождение типа I ингибитора активатора плазминогена, подавляющего фибринолиз, что вызывает отложение фибрина в сосудах микроциркуляции, способствуя развитию полиорганной недостаточности (Петрищев Н.Н., 2007; Гологорский В. А., соавт 1992).

Так, при изучении метаболической функции легочного эндотелия в условиях мышечно-скелетной травмы на экспериментальной модели [и в клинике у

травматологических больных получены данные о повреждении легочного эндотелия и нарушении его фибринолитических функций из-за повышения активности ингибитора активатора плазминогена.

Изучение влияния альвеолярного эпителия на фибринолитическую активность показали, что процесс фибринолиза контролируется альвеолярным эпителием путем экспрессии активатора плазминогена урокиназного типа и ингибитора активатора плазминогена-1 во взаимодействии с матрицей фибрина. Нарушение этого механизма приводит к интраальвеолярному отложению фибрина при воспалительных процессах (Camerer E. et al., 2006; Ware L. et al., 2005).

У больных с РДСВ выявлено снижение активности антитромбина III в артериальной крови в 2 раза ниже физиологических значений, Аналогичные данные были получены у онкологических больных (Батайкина В.В., 2000; Гаврилов О.К. с соавт., 1982).

Поскольку легкие выполняют роль коагулолитического и фибринолитического фильтра, можно предположить, что осажденные и фиксированные на легочном эндотелии сгустки, микротромбы, фибрин и продукты паракоагуляции подвергались воздействию фибринолитической системы, вызывая ее истощение. Показано, что основой РДСВ при эклампсии является нарушение легочного кровообращения в его микроциркуляторном русле в результате повреждения или перенапряжения недыхательных функций легких: оседание механических примесей, форменных элементов крови, сладжирование, выпадение фибрина, выход серотонина, что приводит к повышению проницаемости сосудистой стенки, шунтированию, гипоксии, нарушению питания легочной ткани, снижению продукции сурфактанта, микроателектазированию, увеличению объема внесосудистой воды, затоплению альвеол и, как следствие - сокращению дыхательной поверхности (Грузман А.Б. с соавт., 1991).

Исследование взаимосвязи гемостатических и дыхательных нарушений позволяют более детально представить роль легких в регуляции гемостаза. Как только легочный метаболический фильтр истощается из-за поступления эндотоксинов, продуктов воспаления, активации ПОЛ на фоне нарушений микроциркуляции в самих легких или внешних повреждающих воздействий, происходит массивное поступление в большой круг кровообращения активированных факторов свертывания, продуктов коагуляции, фибринолиза, прокоагулянтов, клеточных агрегатов и микротромбов, биологически активных веществ происходит генерализация процесса с развитием синдрома системного воспалительного ответа и полиорганной недостаточности.

### 1.3 Антикоагулянты и антиагреганты

Антикоагулянты — препараты наиболее часто используемые для профилактики и лечения тромбозов. Они делятся на антикоагулянты прямого действия, которые тормозят биологическую активность факторов свертывания крови и антикоагулянты непрямого действия, тормозящие синтез этих факторов в печени. По механизму ингибирования образования тромбина различают прямые ингибиторы тромбина — гирудин и непрямые, оказывающие антикоагулянтное действие путем непрямого угнетения тромбина, к которым относятся гепарины. Гепарин представляет собой гликозаминогликан, состоящий из отрицательно заряженных мукополисахаридов. Механизм действия гепарина основан на способности связывать антитромбин III, что приводит к торможению активности тромбина, который катализирует превращение фибриногена в фибрин. Комплекс гепарин-АТ угнетает факторы свертывания IXa, Xa, XIa, XIIa, при фиксации на эндотелиальных клетках он стимулирует поступление в кровь ингибитора внешнего пути свертывания, запускаемого тканевым фактором (ТЭП), который в свою очередь блокирует протромбиназный комплекс.

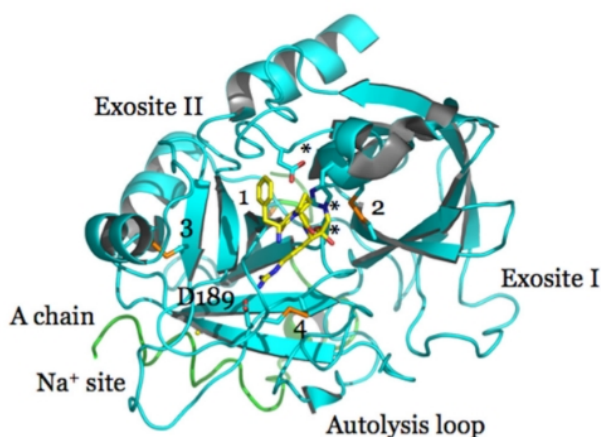


Рисунок 1. Тромбин, в активном центре: PPAСDOI (Tucker W.O. et al., 2012).

Тромбин или фактор свертывания II относится к сериновым протеазам, отличительной чертой которых является наличие в каталитическом центре остатков серина, аспаргиновой кислоты и гистидина (рисунок 1). Тромбин состоит из двух цепей А 36 а.к и В 259 а.к (Lee S.H. et al., 2017). Эти две цепи соединены друг с другом при помощи дисульфидных мостиков. У тромбина имеется активный центр и два сайта: экзосайт I, участвующий в процессе связывания с фибриногеном и экзосайт II, также называемый гепариновым сайтом и, соответственно, участвующий в процессе связывания с гепарином.

Тромбин обладает рядом важных функций: он участвует в процессе образования тромба, в антикоагуляции (при помощи тромбомодулина и протеина С), в фибринолизе, в процессе растворения тромба, в изменении сосудистой проницаемости (Lee S.H. et al., 2017; Delabranche X. et al., 2017; Liuzzo G. et al., 2001; Martin P.D. et al., 1992).

Самым важным свойством тромбина, является его участие в процессе свёртывания крови, где он является центральным белком (Челушкин А.М. с соавт., 2017; Гаврилов О.К., 1982). Тромбин играет ключевую роль в каскаде свёртывания крови, а также в тромбоэмболических осложнениях. Различают два пути каскада – внешний и внутренний, при чем оба эти пути плотно взаимосвязаны (Киричук В.Ф., 2015; Кузник Б. И., 2010) (рисунок 2).



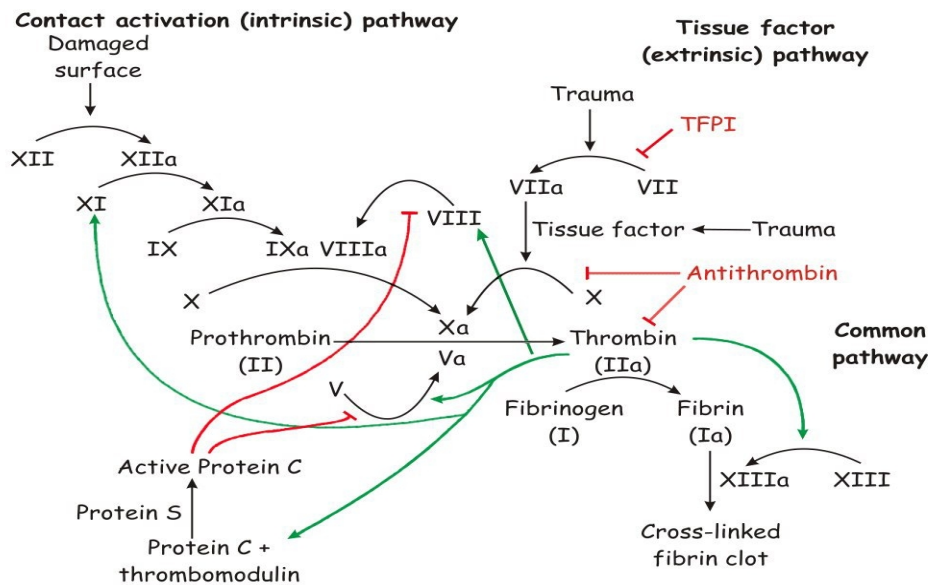


Рисунок 2. Каскад свертывания крови.

В обоих путях ключевым моментом является, запускание тромбином образования кровяного сгустка, переводя фибриноген в не растворимый фибрин и активируя тромбоциты. Поэтому ингибирование активности тромбина предотвращает образование фибрина, уменьшает уровень образования тромбина и уменьшает агрегацию тромбоцитов (Лойко Е.Н., Самаль А.Б., 2003; Струкова С.М., 2001; Панченко Е.П., Добровольский Ф.Б., 1999; Lee S.H. et al., 2017).

Механизм коагуляции состоит из трех фаз: инициации, амплификации и распространения, с последующим фибринолизом (Чепис М.В. с соавт., 2018; Макурина О.Н., 2015). Инициация начинается с фактора VII (FVII), который является единственным фактором в организме человека, который существует как в активном, так и в неактивной форме. Комплекс TF–FVIIa активирует факторы IX (FIX) в FIXa и фактор X (FX) в FXa. При этом FXa частично переводит протромбин в тромбин. Комплекс TF–FVIIa–FXa может быть моментально ингибирован ингибитором тканевых факторов (TFPI). Антитромбин III вместо этого способен блокировать FXa и тромбин. Следы тромбина и FXa, действительно, могут служить как сигнал о наличие повреждения тканей. Когда поврежденная ткань выделит достаточно тканевых факторов, диффузия тромбина

приведёт к активации тромбоцитов, экспозиции фосфолипидной мембраны и высвобождению гранулярного содержимого (Юшков Б.Г., Черешнев В.А., 2016; Якименко А.О. с соавт., 2014; Медведев И.Н. с соавт., 2014). На поверхности тромбоцитов тромбин обрезает фактор XI (FXI) до FXIa и фактор V (FV) до FVa, а также активирует фактор фон Виллибранда (vWF), высвобождая VIII (FVIII) (Ярек-Мартынова И.Р. с соавт., 2018).

Протромбин, FVII, FIX, and FX постраницационно модифицируются витамином К-катализируемым энзимом, который переводит глутаминовую кислоту в  $\gamma$ -карбоксиглутаминовую кислоту (Gla), удваивая отрицательный заряд. Таким образом, Gla остатки образуют ионные связи с  $Ca^{2+}$  с повреждены фосфолипидным слоем чтобы образовать белковый комплекс, который ускоряет и смещает равновесие в сторону образования тромба, а также контролирует этот процесс, иммобилизуя тромб к поврежденному участку, ограничивая перемещение тромба.

Тромбин последовательно активирует переход FVIII в FVIIIa, а затем FIXa и FVIIIa, связывается с плазматической мембраной, образуя своего рода комплекс (Lee S.H. et al., 2017). Этот комплекс быстро генерирует FXa, состоящий из FIXa, FVIIIa, FX и  $Ca^{2+}$  и является более эффективным, нежели TF–FVIIa.

FXa начинает сборку протромбиназного комплекса, состоящего из FVa, FXa и  $Ca^{2+}$ , который с большей эффективностью переводит протромбин в тромбин. Тромбин гидролизует фибриноген до фибрина (еще один белок критический для регуляции процесса коагуляции с молекулярной массой 340кДа), который агрегирует и стабилизируется фактором XIII (FXIII) и может быть разобран протеазным плазмином (активная форма плазминогена).

С другой стороны, фактор FXIII является циркулирующим тетрамером, состоящим из двух А субъединиц (FXIIIa), который связан с двумя “В” субъединицами (FXIIIb). FXIII активируется тромбином с отщеплением FXIIIa и нуждается в ионах  $Ca^{2+}$  как кофакторов, чтобы ускорить FXIIIb высвобождение

для того чтобы позволить конформационно раскрыться каталитическому сайту, позволяя трансглутаминазно активированному (FXIIIa) сыграть ключевую роль в последнем фибриновом кросслинке. В тоже время на целой клеточной стенке тромбин само ингибируется через обратную реакцию: он связывается с тромбомодулином, трансмембранным белком эндотелия, и активирует протеин С, далее aPC вместе с S и TFPI, инактивирует коагуляцию FVa и FVIIIa и ингибирует FXa, подавляя процесс коагуляции (Макурина О.Н., 2015; Arsenault K.A. et al., 2012).

Оставшийся тромбин блокируется сериновыми ингибиторами серпинами, таким как, протромбин, TFPI гепаринового кофактора II, которые ингибируют тромбин в присутствии сульфата дермотана или гепарина, плазмин инактивируется другим протеином того же семейства, называемый  $\alpha$ 2-антиплазмином (Галстян Г.М., 2018; Тимерс К.М., Ревинкел Й.Б.М., 1999).

Таким образом процесс коагуляция имеет механизмы как прямой, так и обратной регуляции, которые способны либо усиливать, либо ослаблять процесс тромбообразования, в зависимости от наличия поврежденного и целого сайта (Кубышкин А.В. с соавт., 2016; De Luca C., 2017; Kuznik B.I., 2010; Hunington J.A., Esmon C.T., 2003).

Гемостаз является крайне сложным процессом. В случае внешней травмы, должна образоваться узкая сеть из фибрина и тромбоцитов, чтобы предотвратить возможную потерю крови. Нарушение процессов коагуляции и агрегации тромбоцитов введет к образованию тромбов, что является смертельно опасным и необходимо лечение (Филиппова О.И. с соавт., 2012). Антикоагулянты, в частности ингибиторы тромбина, являются основным средством коррекции гемостаза (Monroe D.M. et al., 2006).

Антикоагулянты – жизненно необходимый класс лекарств, применяемый для лечения тромбоза в группах высокого риска (Дворянкова Е.В. с соавт., 2018; Шубик Ю.В., 2017). Еще одно применение противотромболитического лечения –

во время хирургических вмешательств и в постоперационном периоде, когда вероятность образования тромбов повышена.

Первым прямым синтетическим ингибитором тромбина был ксимелаготран, но он не был утвержден для применения в медицине в связи с его высокой гепатотоксичностью. Последующие ингибиторы, такие как дабиготран, аргатробан и 20-мер аптамеры, бивалирудин были уже приняты в качестве препаратов, применяемых в медицине. Также были созданы препараты орального применения - апиксобан и ривароксабан (Bauer K.A., 2006). В качестве антикоагулянтов могут использовать низко молекулярные вещества, олигосахариды и белки (Карпич С.А. с соавт., 2017; Song X. et al., 2018). Обладая теми же свойствами, что и ранее перечисленные антикоагулянты, у них снижены такие риски как: возникновения гастроинтестинального и внутричерепного кровоизлияния (Моисеев С.В., 2018; Мороз Е.В. с соавт., 2017).

Основной побочный эффект всех перечисленных антикоагулянтов заключается в том, что при их применение резко повышаются риск кровоизлияния, что накладывает жесткие рамки на возможный срок их применения, а также их токсичность или иммуногенность, которая сильно зависит от природы вещества (Марченко И.А. с соавт., 2017; Мороз Е.В. с соавт., 2017; Казаков А.С. с соавт., 2014; Zavyalova E. et al., 2017). Поэтому антитромболитическое лечение подвергает пациентов опасности кровоизлияния (Heeschen C. et al., 2000). Быстрый и адекватный ответ на такой тип кровотечения способен не только его оставить, но и помочь избежать серьезных осложнений. Однако, это не всегда возможно из-за ряда сложностей. На данный момент существуют разные подходы к данной проблеме, в том числе и разработке алгоритмов действий по предотвращению и лечению возникших кровотечений (Ярек-Мартынова И.Р. с соавт. 2018; Данковцева Е.Н. с соавт., 2014; Arsenault K.A. et al., 2012).

Гепарин – кислый серосодержащий гликозамингликан (рисунок 3). В организме животных и человека гепарин синтезируется (базофильными) тучными клетками, являющимися разновидностью клеточных элементов соединительной ткани. В связи с этим важнейшим источником для получения гепарина в фармакологических и медицинских целях является ткань легких и печени животных (Савельева К.Р. с соавт. 2013; Лукашин Б.П. с соавт., 2007).

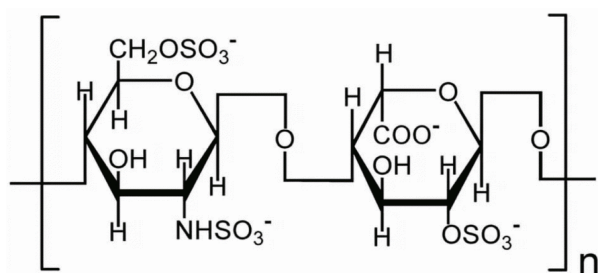


Рисунок 3. Мономер гепарина.

Гепарин состоит в основном из чередующихся остатков α-D-глюкопиранозилуруновой (глюкуроновой) кислоты и 2-сульфамино-2-дезоксид-α-D-глюкопиранозы, связанных α-1,4-гликозидными связями. Кроме сульфатных групп гепарин содержит и сульфэфирные группы (при C<sub>6</sub> остатков сульфо-N-глюкозамина и при C<sub>2</sub> глюкуроновой кислоты). На каждый тетрасахаридный фрагмент приходится приблизительно 5 остатков серной кислоты. В молекуле нативного гепарина протяженные полисахаридные цепи присоединены к белковой молекуле, которая называется кором (Максименко А.В., Бибилашвили Р.Ш., 2016). Структура кора определяется местоположением и функциями углевод-белкового комплекса внутри организма. Связь белковой и углеводной компоненты осуществляется посредством трисахаридного мостика ксилоза – галактоза – галактоза. Однако препараты низкомолекулярного гепарина различаются по химической структуре, методам получения, периоду полураспада, специфическому действию на организм (Солиев А.У., Собиров Ш., 2017; Зырянов

С.К., Ушкалова Е.А., 2016; Ibrahim S.S. et al., 2015; Walenga J.M., Lyman G.H., 2013).

Гепарин является самым распространенным антикоагулянтом и часто используется в постоперационном периоде лечения, в качестве способа предотвращения образования тромбов (Song X. et al., 2018). Курс лечения как правило составляет не более 7 дней (чаще от 3-5, в зависимости от типа операционного вмешательства), т.к. это связано с тем что, гепарин разжижает кровь, а это повышает риск внутренних кровоизлияний, а это в свою очередь может привести к летальному исходу (Song X. et al., 2018; Mengwasser K.E. et al., 2005; Warkentin T.E. et al., 1995).

Гепарин ингибирует и тромбин, и кофактор Ха не напрямую, а через комплексное взаимодействие с модуляцией сериновых протеазных ингибиторов антитромбина. (Lee S.H. et al., 2017; Rauova L. et al., 2009; Warkentin T.E. et al., 1995).

Одной из фундаментальных проблем медицины и молекулярной биологии является изучение взаимодействия белков с нуклеиновыми кислотами (Kadioglu O. et al., 2015; Li W. et al. 2014). Большой интерес вызывает изучение комплексов ДНК аптамеров с белковыми мишенями (Ni X. et al., 2011). Аптамеры — это небольшие фрагменты однонитевой ДНК с достаточно сложной трехмерной структурой, которая обеспечивает специфическое связывание с белками. Такие структуры могут выполнять роль ингибиторов различных белков. К тромбину, центральному белку свёртывания крови, выделены ДНК аптамеры различной структуры, ингибирующие его активность. В структуру выделенных аптамеров входит G-квадруплексный домен, но все аптамеры отличаются ингибирующей активностью (Kotkowiak W. et al., 2018; Russo Krauss I. et al., 2014; Tucker W.O. et al., 2012).

Аптамер – это одноцепочечные олигонуклеотидные последовательности, способные сворачиваться самыми разнообразными способами, начиная от

шпильки, заканчивая квадруплексом (Мазуров А.В., Спиридонова В.А., 2017; Russo Krauss I. et al., 2016). Они обладают способностью высоко специфично связываться с заданными молекулами-мишенями, причем их селективность может зависеть от пространственной конформации мишени, что делает их привлекательной целью медицинских исследований (Замай Г.С. с соавт., 2012; Keefe A.D., Pai S.A., 2010). Терапия при помощи олигонуклеотидов последнее время становится все более и более популярней (Aaldering L.J. et al., 2017).

Обычно аптамеры получают при помощи метода SELEX (Kotkowiak W. et al., 2018.), так называемая селективная эволюция лигандов при помощи экспоненциального обогащения SELEX, что потенциально позволяет их выработать к любой мишени (Zavyalova E. et al., 2017; Aaldering L.J. et al., 2017). В медицине аптамеры обладают многими важными качествами, что делает их возможность применения весьма многообещающими. Одно из неоспоримых преимуществ аптамеров, связано с их природой – возможность разработки эффективного антидота к ним (Шахматова О.О., 2016). Таким антидотом является комплементарная цепь ДНК–связавшись, она будет разрушать комплекс аптамера с тромбином, она будет образовывать двуцепочечную структуру ДНК, которая уже не обладает теми свойствами, что исходный аптамер, полностью нейтрализуя таким образом действие исходного аптамера. Аптамеры из стандартных нуклеотидов обладают очень низкой токсичностью, что делает их препаратами нового поколения (Zavyalova E. et al., 2017; Pica A. et al., 2017).

ТВА 15 – один из самых изучаемых квадруплексных аптамеров. Ядром данного аптамера является G-квадруплексная структура, состоящая из 2 G-тетрад поддерживаемых за счет Хугстонвских взаимодействий и имеют син- или антиконформацию гликозидных связей (рисунок 4). В данном GG квадруплексе имеется три петли: 2 ТТ петли, которые в дальнейшем будут связываться с тромбином и TGT петли. T4 и T13 стабилизируют G-квадруплексную структуру

за счет стэкинг взаимодействия G-квартетов и образования ТТ пары сразу за ними. ТЗ,

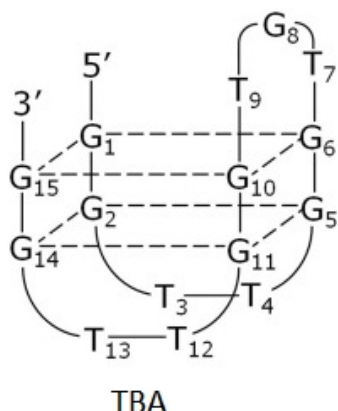


Рисунок 4. Вторичная структура 15 TBA.

T12 и T7 не участвуют в стабилизации молекулы и направлены наружу (Russo Krauss I. et al., 2012; Мазуров А.В., Спиридонова В.А., 2017).

Как было показано на кристаллической структуре, 15TBA связывается с тромбином при помощи тиминов, образуя клешнеподобную структуру, которая и схватывает сайт узнавания фибриногена или экзосайт один (Russo Krauss I et al., 2016; Мазуров А.В. с соавт., 2010).

Качества 15TBA как антикоагулянта были замечены почти одновременно с его открытием. Однако его терапевтическая доза была слишком высока, чтобы успешно закончить клинические испытания. Впрочем, такие свойства 15TBA как: малый размер, возможность обращать его воздействие, и простота его синтеза превышают его недостатки. Потому сейчас ведутся различные исследования, в которых 15TBA модифицируют для улучшения его свойств, в том числе, позволяя приобрести NDF антипрофелирующие свойства при помощи дибензил-линкера (Scuotto M. et al., 2015).

Этот аптамер ингибирует образование фибриновых сгустков связываясь с тромбином, что делает его потенциально антикоагулянтом, однако из-за его доз он не был принят, действующее лекарство. Работы по его улучшению



продолжаются (Копылов А.М., Спиридонова В.А., 2000; Kotkowiak W. et al., 2018; Zavyalova E. et al., 2017; Aaldering L.J. et al., 2017).

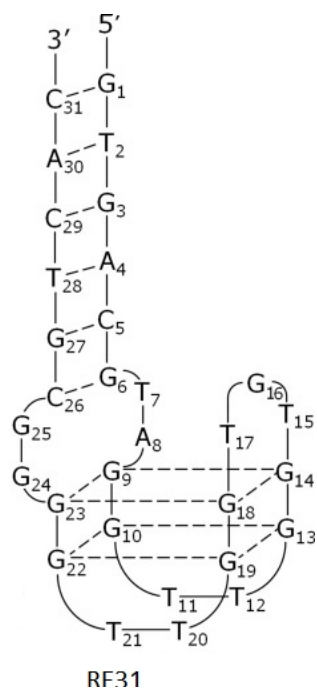


Рисунок 5. Вторичная структура RE 31.

15ТВА и RE31 различаются по строению, а также их взаимодействие с тромбином (рисунок 5). Данные аптамеры избирательно связываются с тромбином в экзосайте 1 и, таким образом, ингибируют его активность коагулянтном каскаде, останавливая его. Различие между 15ТВА и RE31 заключается в том, что последний связывается с тромбином на порядок лучше и способен оказывать более долго временный эффект, нежели 15ТВА (Spiridonova V.A., et al., 2018; Тризно Н.Н. с соавт., 2017).

RE31 обладает схожей с 15ТВА структурой, а именно наличием антипараллельной G-квадруплексной структуры в форме кресла. Данная структура образована за счет стеккинг взаимодействия между двумя G-тетрадами, которые в свою очередь образованы четырьмя гуанинами, связанными с помощью хугстинговскими водородными связями. Также

присутствуют две ТТ петли и одна TGT петля, образуя некое подобие «крючка», так же как и в 15ТВА.

Однако, у RE31 помимо «крючка» имеется также дуплексная часть структуры, соединяющаяся с квадруплексной при помощи линкеров GG и TA. Данная дуплексная часть состоит из 5 Уотсон-Криковских пар Thy2–Ade30 образуя при этом бета спираль. Thy7 и Gua25 образуют неканоническую неоднозначную пару, следующая пара образованна обратными хугстинскими водородными взаимодействиями образованна Ade8 и Thy17, который относится к TGT петле), и последняя пара за счет между Gua24 и Gua16, который находится TGT петле. (Russo Krauss I. et al., 2016).

В ходе анализа кристаллографических структур была установлено, что в стабилизации G-квадруплекса в 15ТВА может участвовать любой из тиминов из TGT петли. Также был выяснен интерфейс связывания тромбина с его аптамерами-ингибиторами 15ТВА. Несмотря на возможные вариации в связывании, существует некое единообразие. А именно: все рассмотренные 15ТВА в первую очередь связываются в основном при помощи тиминовых остатков. Обычно это остатки тимина 3, 4, 12, 13, находящихся в ТТ-петлях, расположенных под G-квадруплексом. Однако, как видно на примере образца 1НУТ возможно присоединение 15ТВА к тромбину и с помощью тиминовых остатков 7 и 9, расположенных в TGT, которые несмотря на то, что их всего два и они физически не могут связаться так же, как четыре тиминовых остатка расположенных в ТТ-петлях под G-квадруплексной структурой, все же пытаются занять такое пространственное положение, что и четыре тимина (Мазуров А.В., Спиридонова В.А., 2017).

Связывание может происходить не только благодаря тиминовым остаткам, но и также благодаря сахарным остовам гуанинового остатка под номером 14. Данное взаимодействие нельзя отнести к обязательным, так как не наблюдалось во всех аптамерах, а также так как это всего одна водородная связь между

кислородом сахарного остова и азотом ARG77A, то данное взаимодействие не будет являться решающими в образовании 15TBA-тромбин комплекса. Максимальный вклад в связывание вносят остатки тиминов 4 и 13, расположенные диагонально относительно друг друга в трёхмерной кристаллографической структуре 15TBA. Этим можно объяснить возможность крепления аптамеров к тромбину под углом сто восемьдесят градусов относительно друг друга: так как тимины имеют одинаковую структуру то и сродство к той или иной части тромбина у них будет одинаковым. Данные тимины находятся в стэкинг-взаимодействии с G-квадруплексом, причем всегда именно эти тимины находятся в стэкинг взаимодействии, в то время как тимины 3 и 14 образуют клешню, как бы обхватывающую нить тромбина, хотя в действительности оба эти тимины 3 и 14 образуют меньше водородных связей. Как было показано ранее, делеция этих тиминовых остатков мало сказывается как на силе ингибирования 15TBA, так и на характере связывания с тромбином, связываясь с теми же аминокислотами, что и 15TBA без делеций ( Pica A. et al., 2017).

Таким образом, аптамеры потенциально могут стать новым классом антикоагулянтов, лишённые всех недостатков.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для изучения изменений функций легких в регуляции баланса системы гемостаза, вызванных хронической ингаляцией сероводородсодержащего газа, использовался промышленный природный сероводородсодержащий газ Астраханского месторождения. Отбор природного газа производился в специальные пробоотборники типа КПО-42 из замерного узла установки «У171» Астраханского газоперерабатывающего завода. Состав природного газа определялся в центральной заводской лаборатории методом газохроматографического анализа на хроматографе «GC-18» «VF-a».

Моделирование хронического эксперимента при ингаляции воздушно-газовой смеси проводилось согласно гигиеническим нормам к требованию выполнения и воспроизведения эксперимента (Токсикометрия химических веществ, 1986).

Экспериментальными животными являлись белые беспородные крысы-самцы, массой 190-220 грамм в количестве 154 штуки. Все животные были разбиты на 10 групп - 4 контрольных и 6 экспериментальных (таблица 1). Исследования проводились на животных в осенне-зимний период с целью исключения влияния сезонных ритмов. Контрольные животные помещались в затравочную камеру на тот же срок с обычным составом дыхательной смеси без примеси газа (Саноцкий И.В.,1970). Выведение животных из эксперимента осуществлялось ежемесячно от начала опыта на протяжении 120 дней. Статические ингаляционные затравки животных осуществлялись в специальных затравочных камерах объемом 200 литров производства Московского института профзаболеваний и гигиены труда им. Эрисмана. Микроклимат в затравочной камере поддерживался в пределах: температура +25С, относительная влажность составляла 65%. Моделирование неблагоприятных факторов внешней среды на интактных крысах проводили при помещении их в атмосферу сероводородсодержащего газа в концентрации  $70 \pm 2,34$  мг/м<sup>3</sup> по сероводороду,

как наиболее активному компоненту природного газа. (Li L. et al., 2018; Lu Z. et al., 2018; Логинов П.В. с соавт., 2013; Измеров Н.Ф. с соавт., 1977). Затравка проводилась в течение 4 часов на протяжении пяти дней в неделю. Работа с лабораторными крысами осуществлялась в соответствии с принципами «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (Страсбург, 1986).

Таблица 1

Распределение животных при хроническом воздействии  
сероводородсодержащего газа в концентрации 70 мг/м<sup>3</sup>

Группы животных	Показатели	Количество животных
1 месяц затравки (контроль/опыт)	PLT, ИАТ, ВС, ПС, D-димер, РФМК, fW, fVIII, АШ, Пламиноген, XIIa-ЭЛ, ИАП-1, МСМ, МДА, ДК, Каталаза, СОД, морфологические методы	12/20
2 месяца затравки (контроль/опыт)	PLT, ИАТ, ВС, ПС, D-димер, РФМК, fW, fVIII, АШ, Пламиноген, XIIa-ЭЛ, ИАП-1, МСМ, МДА, ДК, Каталаза, СОД, морфологические методы	12/20
3 месяца затравки (контроль/опыт)	PLT, ИАТ, ВС, ПС, D-димер, РФМК, fW, fVIII, АШ, Пламиноген, XIIa-ЭЛ, ИАП-1, МСМ, МДА, ДК, Каталаза, СОД, морфологические методы	12/19
4 месяца затравки (контроль/опыт)	PLT, ИАТ, ВС, ПС, D-димер, РФМК, fW, fVIII, АШ, Пламиноген, XIIa-ЭЛ, ИАП-1, МСМ, МДА, ДК, Каталаза, СОД, морфологические методы	12/19
4 месяца затравки + дипиридамол	PLT, ИАТ, ВС, D-димер, РФМК, fVIII, XIIa-ЭЛ, ИАП-1, МСМв/а, МДА, ДК, Каталаза, СОД, морфологические методы	14
4 месяца затравки + ДНК аптамер ингибитор тромбина	PLT, ИАТ, ВС, D-димер, РФМК, fVIII, XIIa-ЭЛ, ИАП-1, МСМв/а, МДА, ДК, Каталаза, СОД, морфологические методы	14
Всего животных	154	

По окончании срока затравки у животных под общим наркозом, создаваемым тиопенталом натрия, из расчёта 40 мг на 1 кг веса (Батрак Г.Е., Кудрин А.Н., 1979), для оценки степени участия легких в преобразованиях звеньев гемостаза кровь для изучения бралась из брюшной аорты (*pars abdominalis aortae*) и из задней полой вены (*vena cavacaudalis*) (Н.Н.Карташев и соавт., 1981) в объёме 4 мл в одноразовые пластиковые шприцы, содержащими в соотношении 5,5-водный цитрат натрия в концентрации 3,8% (0,11 М), что соответствует рекомендации Американского комитета стандартизации клинических лабораторий (NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards), стандарт H21-A2 1991) [[www.nccls.org](http://www.nccls.org)]. Затем кровь распределялась в одноразовую пластиковую лабораторную посуду для центрифугирования и получения богатой и бедной тромбоцитами плазмы (Баркаган З.С, Момот А.П., 2008). После забора крови наркотизированные животные выводились из эксперимента вскрытием грудной полости и созданием пневмоторакса. Все манипуляции были проведены с учетом международных стандартов по клинической лабораторной диагностике NCCLS: H21-A2 1991 [[www.nccls.org](http://www.nccls.org)].

Для определения продуктов ПОЛ и АОС в сыворотке крови использовали дважды отмытую (0,9% раствором NaCl, охлажденным до 4<sup>0</sup>С) тромбоцитарную взвесь.

### **Определение малонового диальдегида**

Принцип метода: при высокой температуре в кислой фазе малоновый диальдегид реагирует с тиобарбитуровой кислотой (ТБК), образуя окрашенный триметиновый комплекс, с максимумом поглощения при 532 нм (Стальная И. Д., Гариашвили Т. Г., 1977).

Ход определения: 0,1 мл дважды отмытых охлажденным до 4<sup>0</sup>С физиологическим раствором эритроцитов в течение 30 минут лизировали при 4<sup>0</sup>С в 2,5 мл дистиллированной воды. Белок осаждали добавлением 1 мл 17% раствора ТХУ

(трихлоруксусной кислоты), образующийся осадок отделяли центрифугированием в течение 10 минут при 3000 об/мин. Надосадочную жидкость по 2 мл переносили в пробирки, добавляя по 1 мл 0,8% водного раствора ТБК и помещали пробы на 10 минут в кипящую водяную баню. В качестве контроля использовали пробы, содержащие воду вместо ТБК. После развития розовой окраски пробы охлаждали до комнатной температуры и измеряли оптическую плотность при 532 нм. Расчет производили на 1 мл крови, исходя из величины молярного коэффициента триметинового комплекса –  $\epsilon = 1,56 \cdot 10^5 \text{ см}^{-1} \text{ М}^{-1}$ .

### **Метод определения диеновых конъюгатов**

Определение ДК проводили в гексановых экстрактах сыворотки крови с помощью спектрофотометрии (Волчегорский В. А., 1989). Для проведения анализа в стеклянные пробирки (опыт) отмеряли 0,5 мл сыворотки, добавляли 0,5 мл дистиллированной воды, пробирки встряхивали. В контрольную пробирку сразу вносили 1 мл дистиллированной воды. Затем в каждую из пробирок добавляли 1 мл этанола, пробирки встряхивали и к полученной смеси добавляли 2 мл гексана. В работе использовали очищенные однократной перегонкой этанол и гексан. Разделение фаз осуществляли центрифугированием при 1500 g в течение 15 мин. Для исследования брали верхнюю гексановую фазу в объёме 1,5 мл. В полученном гексановом экстракте определяли содержание ДК по разности оптической плотности между опытными и контрольной пробями при длине волны 233 нм. Поскольку содержание продуктов ПОЛ в гексановом экстракте зависит от количества экстрагированных липидов, содержание ДК пересчитывали на нмоль/мг ткани.

### **Определение активности каталазы крови**

В основе метода лежит свойство каталазы разлагать 2 молекулы перекиси водорода с образованием двух молекул воды и  $\text{O}_2$ , избыток перекиси водорода титруется перманганатом калия в кислой среде (Бах А., Зубкова Н, в модификации Асатиани В. С., 1969).

Ход определения: готовилось основное разведение крови 1:1000 в дистиллированной воде. В 4 пробирки отмеряли по 7 мл дистиллированной воды. В первые 2-е пробирки переносили по 1 мл основного разведения крови (для параллельного определения). В 2-е вторые по 1 мл предварительно прокипяченного в течение 2-х минут основного разведения крови. Через 30 минут, считая с момента первого разведения крови, в каждую пробирку приливали по 1 мл 1% раствора перекиси водорода, затем через 30 минут быстро приливали во все пробирки по 5 мл 10% раствора серной кислоты для прекращения действия фермента и титровали 0,1% раствором перманганата калия до появления стойкого розового окрашивания.

### **Определение активности супероксиддисмутазы**

Перед исследованием плазму разводили физиологическим раствором 1:10 и инкубировали с 0,95 мл 0,0115 М калий-фосфатного буфера при 37)С в течение 15 мин (Вьюшина АВ 2002) Определение проводили по методике С Чевари (1985). Реагент I. 62 мг ЭДТА, 500 мг РСЕ, 92 мг феназинметасульфата растворяли в 1000 мл фосфатного буф, рН 7,8. Реагент II. 76,3 мг НАД.Р растворяли в 1000 мл Трис-ЭДТА буфера, рН 8,0. Реагенты хранили в холодильнике. Реакцию проводили при 24-25<sup>0</sup>С.

Измерения проводили на спектрофотометре, при длине волны 540 нм. После перемешивания компонентов в кювете устанавливали первоначальную инстинкцию. Через 10 мин измеряли нарастание оптической плотности.

### **Исследование сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза**

Оценка тромбоцитарного звена гемостаза проводилась с помощью микроскопического метода подсчёта в счётной камере Горяева с применением 1% водного раствора оксалата аммония. Для получения раствора крови с разведением в 200 раз в пробирке смешивали 0,02 мл венозной крови и 4 мл оксалата аммония.

Время индуцированной агрегации тромбоцитов и степени агрегации на стекле с УИА (универсальным индуктором агрегации), в % (Агрескин – тест); В качестве индуктора агрегации использовался точно дозируемый в лунках



планшета гемолизат эритроцитов из диагностикума "Агрескрин-тест" фирмы "Технология-Стандарт" (Россия) (АДФ-индуцируемая агрегация).

### **Исследование состояния отдельных факторов свертывающей и противосвертывающей системы**

#### Определение фактора Виллебранда

Фиксированные тромбоциты (фирмы «Технология Стандарт», Барнаул) после разморозки центрифугировали 20 минут (1500 об/мин), затем в суспензирующем растворе объемом 1мл (1 объем 3,8% цитрата натрия и 5 объемов 0,9% хлористого натрия (рН 7,4) (оптическая плотность 1 спектрофотометра ПЭ-5400 В, производства ООО «ПромЭкоЛаб», Россия). К 1 мл рабочей взвеси тромбоцитов добавляли 0,6 мл хлорида натрия (0,9%) и 0,2 мл (1:1 с хлоридом натрия, 0,9%) исследуемой бедной тромбоцитами плазмы и 0,2 мл раствора ристомицина и измеряли оптическую плотность (А1). После этого перемешивали смесь магнитной мешалкой (перелив предварительно раствор в кювету объемом 5мл), затем измеряли оптическую плотность (А 2) и вычисляли индекс агглютинации (ИА) по формуле:  $ИА = (A1 - A2) / A1$ .

После построения калибровочной кривой на основе смеси из образцов нормальной бедной тромбоцитами плазмы контрольных крыс. Разведение в суспензирующем растворе в 2,4 и 8 раз, которое соответствовало 100, 50 и 25% активности фактора Виллебранда. По индексу агглютинации (ось абсцисс) определяли уровень активности фактора (ось ординат).

#### Определение фактора VIII

Субстратную плазму («Технология стандарт», Барнаул) с глубоким дефицитом по фактору VIII (фVIII) (0,1 мл) в пробирке смешивали с разведенной буфером (1:10) плазмой крыс, добавляли АПТВ-реагент (0,1 мл), перемешивали и помещали на 3 минуты на водяную баню (37<sup>0</sup>С). После чего к смеси добавляли 0,1 мл 0,277% раствора кальция хлорида и с помощью секундомера определяли время образования сгустка.

### Определение антитромбина III

Плазменный антитромбин III определяли с помощью диагностикума «ХромоТех-Антитромбин» ("Технология-Стандарт", Россия) и спектрофотометра ПЭ-5400 В (ООО «ПромЭкоЛаб», Россия), длина волны 405 нм.

### Определение активности протеина С

Исследовалась активность протеина С естественного антикоагулянта («Парус-тест», фирмы "Технология-Стандарт", Россия ). Активность параметра выражалась в Ед Нормализованного отношения, рассчитанного по формуле :

$$НО = (C(1) \times B(2) / B(1) \times C(2)) \times K,$$

где C(1) и C(2) - время свёртывания в контрольной плазме с добавлением дистиллированной воды(C1) и активатора протеина С (C2); B(1) и B (2) — время свёртывания в плазме животных с добавлением дистиллированной воды (B1) и активатора протеина С (B2). K — нормирующий коэффициент (0,90).

### **Исследование состояния фибринолитического звена гемостаза**

Хагеман-зависимый (XIIa-зависимый) эуглобиновый лизис исследовали с помощью «Фибринолиз-теста», фирмы «Технология — стандарт», Россия.) Для разграничения нарушений в нарушении активности фактора XII, прекалликреина, ВМК и плазминогена была использована стрептокиназа («Стрептокиназа», «Технология — стандарт», Россия) в виде рабочего раствора в концентрации 330 МЕ/мл.

Активность ингибитора активатора плазминогена 1 (ИАП-1) определяли с помощью диагностикума «Berichrom PAI» фирмы Dade Behring Inc. А также спектрофотометра ПЭ-5400в. Длина волны использовалась 405 нм.

Концентрацию плазминогена определяли на основе способности последнего связывать стрептокиназу (0,5 мл) и расщеплять хромогенный субстрат (0,5 мл). По скорости расщепления на длине волны 405 нм производили расчет содержания плазминогена. Используются диагностикум «ХромоТех-

Плазминоген» («Технология — стандарт», Россия) и спектрофотометр ПЭ-5400в (Россия).

### **Определение состояния маркеров активации системы гемостаза и фибринолиза**

Производилось определение растворимых фибринмономерных комплексов («РФМК - тест», «Технология — стандарт», Россия). Разведение концентрированного буфера трис-HCl, приготовление маточного раствора тромбина проводится в соответствии с инструкцией к набору реагентов.

Выявление D-Димера в плазме проводили с помощью D-Dimer-test (D-Dimer-CHECK-1), иммунохроматографическим экспресс-тестом, фирмы Bio-Merieux.

### **Определение содержания молекул средней массы**

Интегративный показатель нарушенного метаболизма (эндотоксемия) изучалась с определением веществ средней молекулярной массы (СММ), в артериальной и венозной плазме (Малахова М.Я. с соавт., 1989).

Для определения, находящихся в плазме крови молекул средней массы (СММ) плазму крови доводили до исходного объема крови физиологическим раствором, перемешивали и производили осаждение 15% трихлоруксусной кислотой в соотношении 2:1. Через 15 минут пробы центрифугировали при 3000 об/мин в течение 30 минут.

Анализ производился на спектрофотометре ПЭ-5400в, конечный результат выражали в условных единицах площади фигуры, ограниченной кривой графика и осью абсцисс в диапазоне волн 230 - 310 нм результат рассчитывался по формуле:

$$\text{Степень интоксикации} = \Sigma (E_{\lambda_{238}} + E_{\lambda_{242}} + E_{\lambda_{246}} + \dots + E_{\lambda_{310}}) \times 4,$$

т.е. сумма экстинций, умноженная на шаг длины волны.

### **Исследование возможности коррекции изменений**

ДНК аптамер ингибитор тромбина (RE-31), разведённый в виде рабочего раствора 0,1 мл вводился подкожно. На 30-той минуте производился забор крови в количестве 1,5 мл в одноразовые шприцы с предварительным содержанием раствора цитрата натрия в соотношении 1:9. Полученная кровь распределялась в одноразовые эппендорфы, центрифугировалась и наряду с контрольной (не содержащей аптамеры) подвергалась исследованию по вышеизложенной методике. Для оценки степени участия легких в процессах гемостаза нами была исследована кровь, взятая из брюшного отдела аорты, т.е., прошедшая малый круг кровообращения и из задней полой вены, т.е. после циркуляции по большому кругу. Отдельно была сформирована группа крыс для применения дипиридамола (Dipyridamole). Воздействие ССГ соответствовало условиям четвертой группы, т.е. пребывавшим в эксперименте 4 месяца. В течение последних 12 дней четвертого затравочного месяца дипиридамола вводили курсом (3 мг/кг массы тела).

### **Морфологические методы исследования**

Для получения гистологических препаратов из грудной полости изымались образцы легких, которые на протяжении 24 часов фиксировались в 10 % растворе забуференного формалина (BioVitrum). В дальнейшем материал проводился через батарею спиртов от 60 до 96, по 1 часу в каждом; промежуточной среде спирт-ксилол- 4 часа, ксилол -1 час, парафиновая каша 1 и 2 по -1,5 часов, парафин 1 и парафин 2 - по 1 часу.

Затем из материала готовили парафиновые срезы, которые окрашивали гематоксилин-эозином.

Окраску по Ван Гизону применяли как для обзорной окраски, так и для выявления соединительной и мышечной тканей. При этом ядра окрашиваются в

черный, мышечная ткань в зеленый, а соединительная - в розовый цвета.

#### Статистические методы

Материалы обрабатывались на персональном компьютере с помощью утилиты OpenOffice Calc программного продукта OpenOffice (Ver. 3.0) и прикладной программы SPSS Statistics 21, функционирующей под управлением Windows 10. Графический анализ проводили в системе Microsoft Graf (приложение MS Word 97) программ «Microsoft Office Windows 2010», «Microsoft Office Excel 2010». При этом определялись средние арифметические величины ( $M$ ), стандартное отклонение ( $s$ ), и вероятность различия ( $p$ ) по таблице Стьюдента. Непараметрические величины вычислялись с применением критерия Колмогорова-Смирнова. Достоверной считалась разница при  $p < 0,05$ . Для оценки взаимозависимости сравниваемых признаков использован корреляционный анализ Пирсону ( $R$ ) (Гланц С., 1999). Сильной корреляционная связь признавалась при  $r = 0,8 — 1,0$ , средней — при  $0,6 < r < 0,8$  и слабой — при  $r < 0,4$  (Реброва О. Ю., 2000). Построение градиентов, векторов, расчет коэффициентов и показателей аппроксимации физиологических параметров проводилось с учетом методических рекомендаций лаборатории математической физиологии НИИ иммунологии и физиологии Уральского отделения РАН (Дёмин А. В. с соавт., Лопотко А. И., 2012).

### ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

#### 3.1. Исследование показателей перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы в ткани легких и тромбоцитах при хроническом воздействии сероводородсодержащего газа в концентрации 70 мг/м<sup>3</sup>

Состояние прооксидантной и антиоксидантной систем оценивалось по уровню малонового диальдегида (МДА), диеновых конъюгатов (ДК), каталазной активности и содержанию супероксиддисмутазы (СОД). Как видно из таблицы 2, хроническое воздействие ССГ на протяжении четырех месяцев затравочного периода привело к постепенному увеличению содержания малонового диальдегида — показателя конечного этапа перекисного окисления липидов (ПОЛ).

Таблица 2

Показатели свободнорадикальных процессов в ткани легких и тромбоцитах у экспериментальных животных при хроническом (4 месяца) воздействии сероводородсодержащего газа в концентрации 70 мг/м<sup>3</sup>, М ± s

Периоды эксперимента	Ткань легких		Тромбоциты	
	МДА нмоль/мг бел.	ДК нмоль/мг лип.	МДА нмоль/мг бел.	ДК нмоль/мг
Контроль	17,5 ± 0,78	46,1 ± 1,34	12,9 ± 0,63	19,8 ± 0,76
1 месяц	21,3 ± 0,86*	51,2 ± 1,37*	16,3 ± 0,69*	25,1 ± 0,90**
2 месяца	24,8 ± 0,89***	54,8 ± 1,39*	19,3 ± 0,78**	29,8 ± 0,97***
3 месяца	26,7 ± 0,91***	57,3 ± 1,40**	19,8 ± 0,78***	33,2 ± 1,23***
4 месяца	29,8 ± 0,95***	56,8 ± 1,39**	24,8 ± 0,87***	35,1 ± 1,29***

\* - уровень статистической значимости между показателями опытной и контрольной группами (\* - p < 0,05, \*\* - p < 0,01, \*\*\* - p < 0,001).

Через месяц хронического воздействия ССГ содержание МДА возросло в ткани легких на 21,7% (p < 0,05), в тромбоцитах — на 14,0% (p < 0,05) (рисунок 6). Уровень первичных продуктов ПОЛ — ДК увеличился в тромбоцитах — на 26,8% (p < 0,01). В ткани легких уровень ДК возрос на 20,2% (p < 0,05).

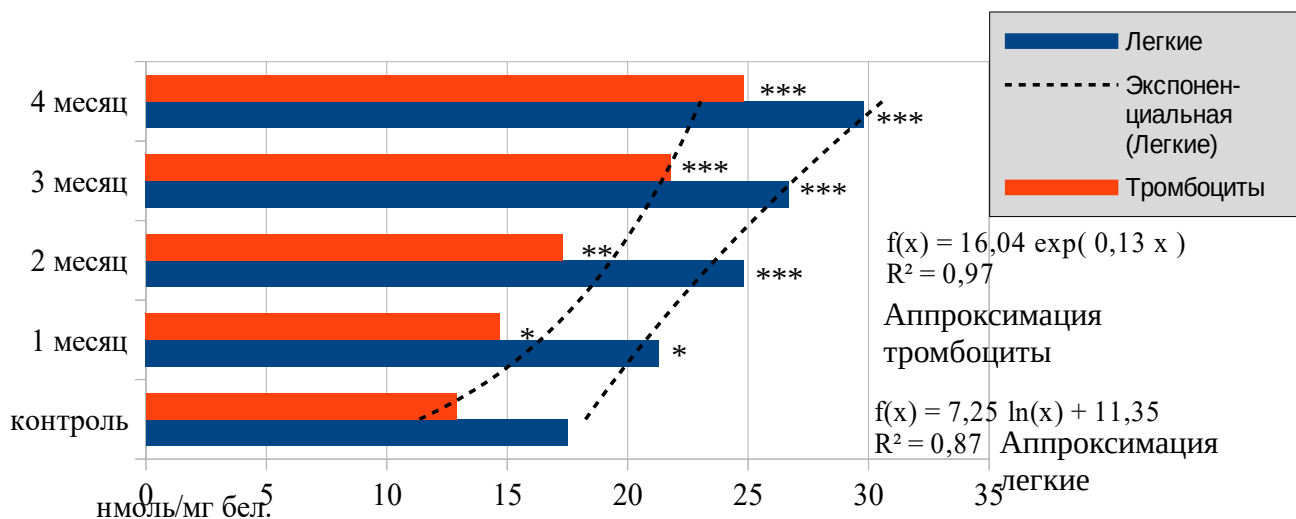


Рисунок 6. Изменение уровня малонового диальдегида в легких и тромбоцитах в динамике воздействия сероводородсодержащего газа (70 мг/м<sup>3</sup> по сероводороду)

\* - уровень статистической значимости между показателями опытной и контрольной группами (\* -  $p < 0,05$ , \*\* -  $p < 0,01$ , \*\*\* -  $p < 0,001$ ).

Показатель антиоксидантной защиты, каталазная активность достоверно увеличилась в ткани легких — на 20,2% ( $p < 0,05$ ). Процент торможения степени восстановления СОД в данный затравочный период возрос в ткани легких на 30,9% ( $p < 0,01$ ), в тромбоцитах — на 17,6% ( $p < 0,05$ ).

Через два месяца экспериментального периода содержание МДА возросло 41,7% ( $p < 0,001$ ) в ткани легких. На 34,1% ( $p < 0,01$ ) увеличился уровень данного показателя в тромбоцитах. Содержание первичных продуктов окисления ненасыщенных жирных кислот — ДК достоверно увеличилось в тромбоцитах — на 50,5% ( $p < 0,001$ ) (рисунок 7).

Состояние параметров антиоксидантной системы достоверно не отличаются от значений в контрольных группах. Отмечена тенденция к снижению СОД на 8,7% ( $p > 0,05$ ) в легочной ткани (таблица 2).

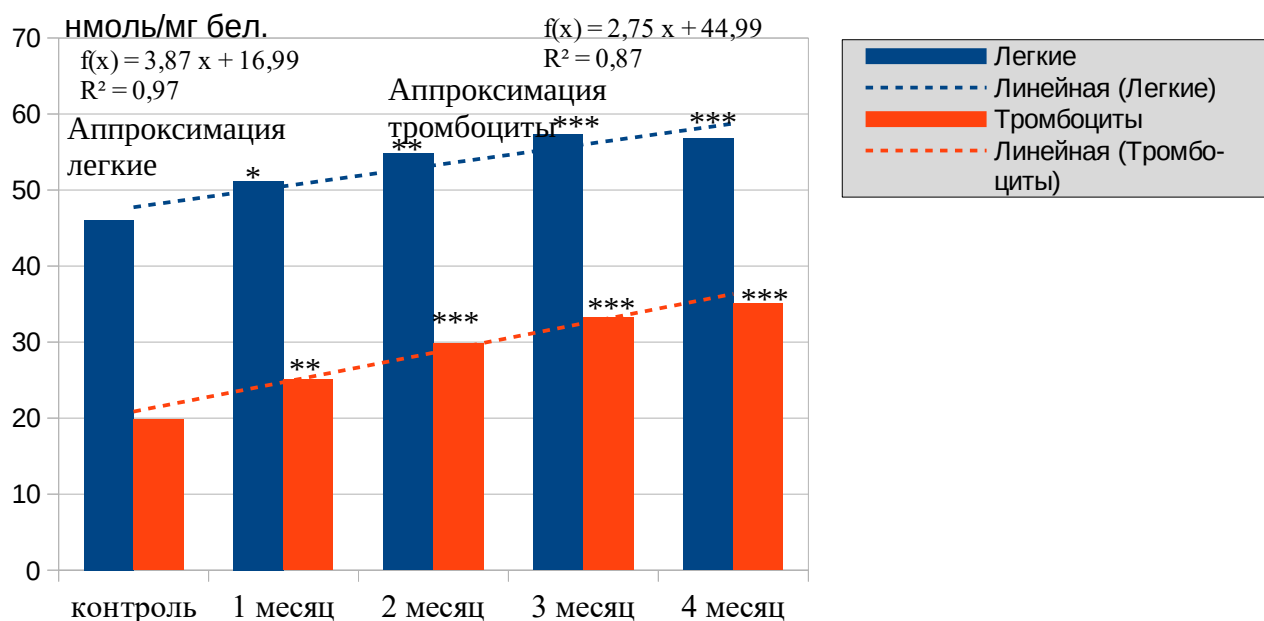


Рисунок 7. Изменение уровня диеновых конъюгатов в легких и тромбоцитах в динамике воздействия сероводородсодержащего газа ( $70 \text{ мг/м}^3$  по сероводороду)

\* - уровень статистической значимости между показателями опытной и контрольной группами (\* -  $p < 0,05$ , \*\* -  $p < 0,01$ , \*\*\* -  $p < 0,001$ ).

Через три месяца экспериментального периода уровень МДА увеличился на 52,6% ( $p < 0,001$ ) в легочной ткани, и на 68,9% ( $p < 0,001$ ) — в тромбоцитах (рисунок 6). Количество ДК возросло на 15,2% ( $p < 0,05$ ) в легких, и на 67,7% ( $p < 0,001$ ) — в пластинках крови (таблица 2, рисунок 6).

Как видно по данным, представленным в таблице 3, уровень антиоксидантной защиты понизился по показателям каталазной активности в легких на 14,3% ( $p < 0,05$ ) (рисунок 8). Активность СОД уменьшилась на 11,3% ( $p < 0,05$ ) в тромбоцитах, и на 18,7% ( $p < 0,05$ ) — в легочной ткани по сравнению с группами контроля (рисунок 9).



Таблица 3

Показатели ферментативной антиоксидантной активности в ткани легких и тромбоцитах у экспериментальных животных при хроническом (4 месяца) воздействии сероводородсодержащим газом в концентрации  $70 \text{ мг/м}^3$ ,  $M \pm s$

Периоды эксперимента	Ткань легких		Тромбоциты	
	Каталаза Мкат/г	СОД %	Каталаза Мкат/л * $10^3$	СОД %
Контроль	$104,2 \pm 3,32$	$51,8 \pm 1,98$	$320,7 \pm 5,43$	$47,8 \pm 1,86$
1 месяц	$125,3 \pm 3,37^*$	$67,8 \pm 2,12^{**}$	$348,1 \pm 5,49$	$56,2 \pm 2,23^*$
2 месяца	$101 \pm 3,29$	$47,3 \pm 1,91$	$317,3 \pm 5,41$	$48,1 \pm 1,90$
3 месяца	$89,3 \pm 2,76^*$	$42,1 \pm 1,86^*$	$299,4 \pm 5,36$	$42,4 \pm 1,73^*$
4 месяца	$73,6 \pm 2,70^{**}$	$36,2 \pm 1,61^{**}$	$286,6 \pm 5,35^*$	$34,9 \pm 1,58^{**}$

\* - уровень статистической значимости между показателями опытной и контрольной группами (\* -  $p < 0,05$ , \*\* -  $p < 0,01$ , \*\*\* -  $p < 0,001$ ).

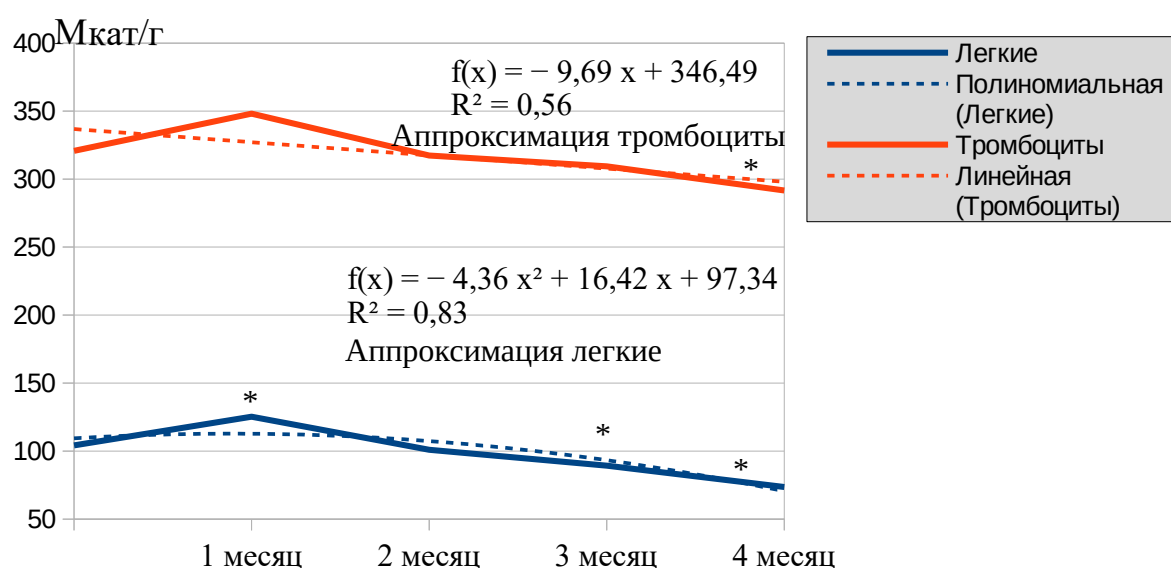


Рисунок 8. Изменение уровня каталазы в легких и тромбоцитах в динамике воздействия сероводородсодержащего газа ( $70 \text{ мг/м}^3$  по сероводороду)

\* - уровень статистической значимости между показателями опытной и контрольной группами (\* -  $p < 0,05$ , \*\* -  $p < 0,01$ ).

Через четыре месяца хронического воздействия ССГ содержание МДА значительно возросло в тромбоцитах, на 92,2% ( $p < 0,001$ ), и на 70,3% - в ткани легких ( $p < 0,001$ ). Уровень ДК увеличился на 77,3% ( $p < 0,001$ ) в пластинках крови, и на 23,2% ( $p < 0,05$ ) — в легких (рисунок 7).

Каталазная активность уменьшилась в легочной ткани на 29,4% ( $p < 0,05$ ), и на 10,6% ( $p < 0,05$ ) — в тромбоцитах. Показатель активности СОД сократился на 30,1% ( $p < 0,01$ ) в легких. В пластинках крови процент торможения степени восстановления СОД уменьшился на 26,9% ( $p < 0,01$ ) по сравнению с контроле (рисунок 9).

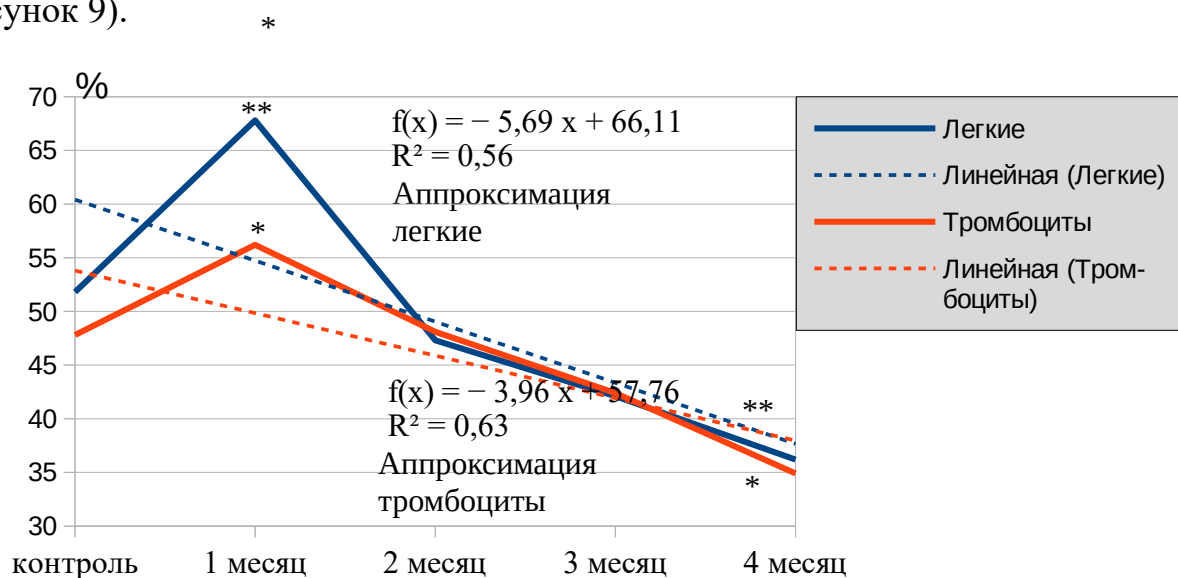


Рисунок 9. Изменение уровня супероксиддисмутазы в легких и тромбоцитах в динамике воздействия сероводородсодержащего газа ( $70 \text{ мг/м}^3$  по сероводороду)

\* - уровень статистической значимости между показателями опытной и контрольной группами (\* -  $p < 0,05$ , \*\* -  $p < 0,01$ )

Таким образом, интенсивность процессов перекисного окисления липидов возрастала по мере увеличения срока затравки ССГ. Уровень антиоксидантной системы (АОС) увеличивался через месяц экспериментального периода. Показатели АОС указывали на истощение системы в группах с максимальным четырехмесячным сроком воздействия ССГ.

### 3.2. Изучение изменений показателей системы гемостаза в аспекте артерио-венозной разницы на фоне хронического воздействия сероводородсодержащего газа

Для оценки степени участия легких и их ферментных систем в процессах гемостаза нами была исследована кровь, взятая из дуги аорты (*arcus aortae*), т. е., прошедшая малый круг кровообращения и из задней полой вены (*vena cava posterior*) (Карташев Н.Н. с соавт., 1981), т. е. после циркуляции по большому кругу.

По данным, представленным в таблице 4 видно, что после одного месяца хронической заправки ССГ функциональная активность тромбоцитов достоверно уменьшилась на 24% ( $p < 0,01$ ) в венозной крови, и на 26% ( $p < 0,01$ ) — в артериальной по сравнению с контролем.

Общее время свертывания венозной крови возросло на 6,8% ( $p > 0,05$ ) и артериальной — на 8,5% ( $p < 0,05$ ).

Содержание РФМК превышало в венозной крови на 15,8% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с артериальной и не изменилось в опытных группах через месяц действия газа.

Скорость ХПа-ЭЛ венозной крови была несколько выше артериальной, на 2,6% ( $p > 0,05$ ). ССГ стимулировал ускорение лизиса сгустка интенсивнее в артериальной крови — на 20,3% ( $p < 0,01$ ), чем в венозной — на 16,9% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольными величинами.

Активность фактора Виллебранда незначительно выше в артериальной крови на 2,2% ( $p > 0,05$ ). В опытных группах после месяца воздействия газа значение показателя не изменилось.

Содержание плазменного антитромбина III на 12% ( $p < 0,05$ ) выше в венозной крови контрольных групп. Уровень показателя в опытных группах с месячным периодом воздействия ССГ практически не изменился.

Активность естественного антикоагулянта протеина С на 14,3% ( $p < 0,05$ ) больше выражена в артериальной крови. Месяц воздействия ССГ увеличил активность показателя на 34,3% ( $p < 0,001$ ) в артериальной крови.

Таблица 4

Показатели свертываемости венозной и артериальной крови у экспериментальных животных при хроническом (1 месяц) воздействии сероводородсодержащим газом в концентрации 70 мг/м<sup>3</sup>, М ± s

Показатели	Венозная кровь		Артериальная кровь	
	Контроль №1	Опыт №1	Контроль №1	Опыт №1
PLT x 10 <sup>9</sup> /л	758 ± 5,45	741 ± 5,38	769 ± 6,78	757 ± 6,65
ИАТ, %	100 ± 5,34	76 ± 0,79	100 ± 4,90	74 ± 3,89
ВС, мин	5,9 ± 0,76	6,3 ± 0,65	5,95 ± 0,67	6,4 ± 0,56
РФМК, мг/100 мл	3,8 ± 0,12	3,8 ± 0,12	3,2 ± 0,11	3,2 ± 0,12
Д-димер, % особей	abs	abs	abs	abs
ХШа-ЭЛ, мин	7,7 ± 0,45	6,4 ± 0,54*	7,9 ± 0,65	6,3 ± 0,66
ф.Виллебранда, %	94,1 ± 1,45	94,9 ± 1,56	96,2 ± 1,76	97,1 ± 1,68
ФVIIIa, %	85,4 ± 1,32	85,3 ± 1,35	85,6 ± 1,56	85,5 ± 1,34
Антитромбин, %	117,2 ± 4,56	116,2 ± 4,67	103,1 ± 4,78	101,8 ± 4,86
Протеин С, Ед	0,6 ± 0,05	0,71 ± 0,06*	0,7 ± 0,04	0,94 ± 0,07**
Плазминоген, %	79,5 ± 1,67	79,3 ± 1,87	79,3 ± 1,67	79,1 ± 1,35
ИАП-1, Ед/мл	2,7 ± 0,21	2,7 ± 0,23	2,75 ± 0,34	2,79 ± 0,39
Индекс токсемии	0,47 ± 0,06	0,59 ± 0,07*	0,59 ± 0,07*	0,59 ± 0,07*

\* - уровень статистической значимости между показателями опытной и контрольной группами (\* -  $p < 0,05$ , \*\* -  $p < 0,01$ )

В венозной крови активность протеина С возросла на 18,3% ( $p < 0,01$ ) по сравнению с контролем (рисунок 10).

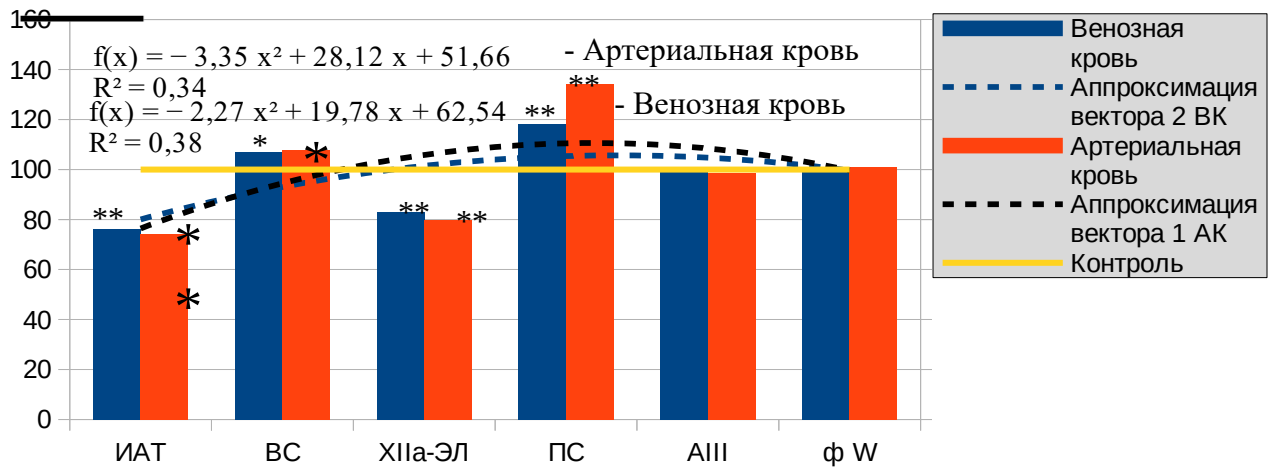


Рисунок 10. Показатели гемограммы крыс через 1 месяц хронического воздействия сероводородсодержащего газа ( $70 \text{ мг/м}^3$  по сероводороду)

Примечание: данные на рисунке выражены в % относительно своей группы контроля; Уровень статистической значимости между опытной и контрольной группой соответствует \*-  $p < 0,05$ , \*\* -  $p < 0,01$ , \*\*\* -  $p < 0,001$ .

В качестве интегративного показателя уровня метаболических нарушений от воздействия ССГ на кровь был исследован индекс токсемии, отражающий состояние молекул средней массы (МСМ). В частности, в процессе хронического воздействия ССГ растет содержание в плазме простагландинов, простаглицлина, тромбксана, биологических аминов (гистамин, норадреналин). Так, по данным таблицы 4, в группах контроля было определено, что индекс токсемии венозной крови (МСМв) выше артериальной (МСМа) на 12,5% ( $p < 0,05$ ). Через месяц воздействия ССГ уровень МСМв увеличился на 25,5% ( $p < 0,01$ ), а МСМа — на 32,6% ( $p < 0,01$ ) в сравнении с контролем.

Таким образом, легочной «фильтрационный барьер» отражен в меньшем содержании РФМК, плазменного антитромбина в артериальной крови. В опытных группах одного месяца хронического воздействия ССГ определился гипокоагуляционный потенциал плазмы крови.

По результатам, представленным в таблице 5 видно, что через два месяца хронического воздействия ССГ функциональная активность тромбоцитов по

показателю индуцированной агрегации была ниже контрольных величин на 15% ( $p < 0,05$ ) в артериальной крови, и на 12% ( $p < 0,05$ ) - в венозной.

Общее время образования фибринового сгустка в венозной и артериальной крови было увеличено на 20,3% ( $p < 0,05$ ) и на 22,7% ( $p < 0,05$ ) соответственно.

В опытных группах двухмесячного периода воздействия ССГ у 25% ( $p < 0,05$ ) животных и в артериальной, и в венозной крови был превышен чувствительный порог (500 нг/мл) определения маркера активации системы гемостаза — D-димера.

Скорость XIIa-ЭЛ была выше в венозной крови по отношению к контролю на 10,4% ( $p < 0,05$ ). В артериальной крови интенсивность лизиса фибринового сгустка также определялась выше контрольных величин на 10,1% ( $p < 0,05$ ).

Содержание плазменного антитромбина III в опытной через два месяца воздействия ССГ выше в венозной крови по сравнению с артериальной на 12,6% ( $p < 0,05$ ). В сравнении с контролем определялась тенденция к уменьшению данного показателя на 4,75% ( $p > 0,05$ ) и 4,2% ( $p > 0,05$ ) в артериальной и венозной крови соответственно (рисунок 11).

Активность ПС в опытной группе данного срока воздействия поллютанта повышена и в венозной, и в артериальной крови, но артериальной разница с контролем значительнее — на 34,3% ( $p < 0,001$ ), чем в венозной — на 25,7% ( $p < 0,001$ ). По сравнению с группой одного месяца воздействия ССГ активность ПС в венозной крови возросла на 7% ( $p > 0,05$ ), в артериальной — на 3,2% ( $p > 0,05$ ).

Через два месяца хронической ингаляции ССГ увеличилась активность ИАП-1. На 16,4% ( $p < 0,05$ ) уровень активности показателя выше в артериальной крови, и на 14,8% ( $p < 0,05$ ) — в венозной по сравнению с контролем.

Индекс токсемии увеличился на 41,9% ( $p < 0,001$ ) в артериальной и на 34% ( $p < 0,001$ ) в венозной крови по сравнению с контролем. Данный показатель указывает на активный синтез эндотелием сосудов легких молекул средней массы с увеличением срока воздействия ССГ.

Таблица 5

Показатели свертываемости венозной и артериальной крови у экспериментальных животных при хроническом (2 месяца) воздействии сероводородсодержащим газом в концентрации 70 мг/м<sup>3</sup>, М ± s

Показатели	Венозная кровь		Артериальная кровь	
	Контроль №2	Опыт №2	Контроль №2	Опыт №2
PLT x 10 <sup>9</sup> /л	757 ± 5,34	717 ± 5,46*	768 ± 5,67	743 ± 5,76*
ИАТ, %	100 ± 2,11	88 ± 1,99*	100 ± 2,13	85 ± 1,86*
ВС, мин	5,95 ± 0,31	7,1 ± 0,54*	5,96 ± 0,32	8,5 ± 0,61*
РФМК, мг/100 мл	3,8 ± 0,67	4,0 ± 0,76	3,2 ± 0,65	3,5 ± 0,66
D-димер, %	abs	3 (21,4%)*	abs	3 (21,4%)*
XIIa-ЭЛ, мин	7,6 ± 0,91	6,9 ± 0,90*	7,8 ± 0,92	7,1 ± 0,93*
ф.Виллебранда, %	94,1 ± 1,45	95,1 ± 1,49	96,2 ± 1,45	98,6 ± 1,56
ФVIIIa, %	85,4 ± 2,34	85,2 ± 2,31	85,6 ± 2,33	85,9 ± 2,34
Антитромбин, %	117,2 ± 4,58	112,3 ± 4,47#	103,1 ± 4,55	98,2 ± 4,11#
Протеин С, Ед	0,6 ± 0,02	0,76 ± 0,03***	0,7 ± 0,03	0,97 ± 0,04***
Плазминоген, %	79,5 ± 1,98	78,1 ± 1,95	79,3 ± 1,99	78,9 ± 1,96
ИАП-1, Ед/мл	2,7 ± 0,67	3,1 ± 0,77*	2,76 ± 0,67	3,2 ± 0,78*
Индекс токсемии	0,47 ± 0,03	0,63 ± 0,04***	0,43 ± 0,02	0,61 ± 0,04***

\* - уровень статистической значимости между показателями опытной и контрольной группами (\* - p < 0,05, \*\* - p < 0,01, \*\*\* - p < 0,001).

# - уровень статистической значимости между показателями опытных (вена/артерия) групп (# - p < 0,05).

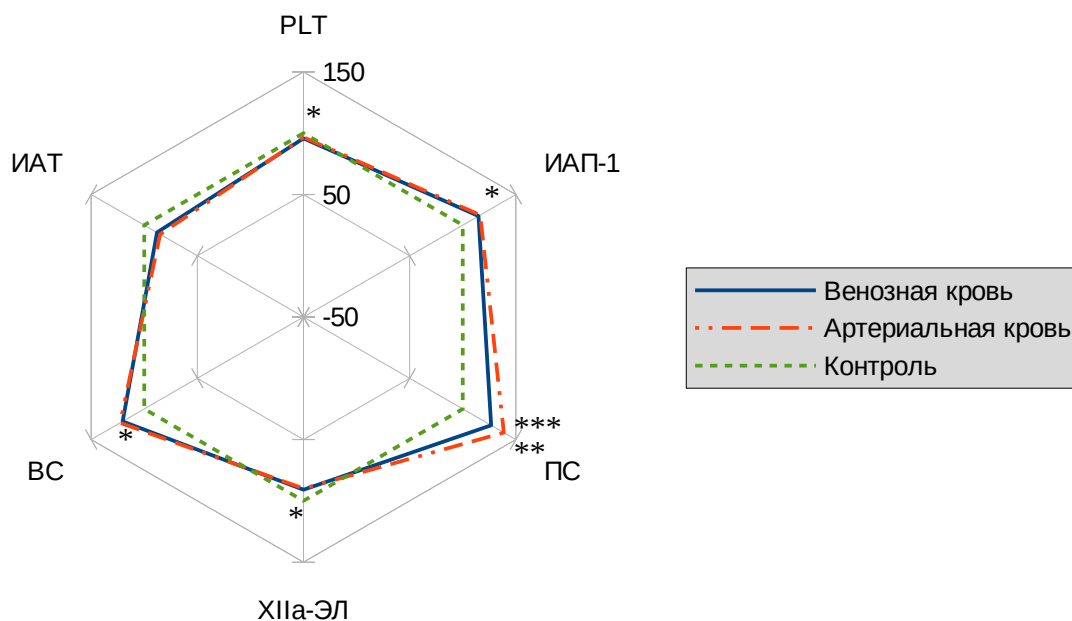


Рисунок 11. Показатели гемограммы крыс через 2 месяца хронического воздействия сероводородсодержащего газа ( $70 \text{ мг/м}^3$  по сероводороду)

Примечание: данные на рисунке выражены в % относительно своей группы контроля; Уровень статистической значимости между опытной и контрольной группой соответствует \*-  $p < 0,05$ , \*\* -  $p < 0,01$ , \*\*\* -  $p < 0,001$ .

Динамика изменений параметров коагулограммы через три месяца воздействия поллютанта представлена в таблице 6.

Количество тромбоцитов уменьшилось в артериальной крови на 10,4% ( $p < 0,05$ ), в венозной — на 10,03 ( $p < 0,05$ ). Отмечено, что функциональная активность тромбоцитов была ниже контрольных величин на 8% ( $p > 0,05$ ) и на 6% ( $p > 0,05$ ), чем в контроле. Что в сравнении с группой двухмесячного периода пребывания в эксперименте указывает на тенденцию к повышению агрегационной способности пластинок крови.

Содержание РФМК в опытной группе после трех месяцев воздействия ССГ увеличилось как в артериальной крови (на 21,9%,  $p < 0,05$ ), так и в венозной (на 10,5%,  $p < 0,05$ ). Причем, показатель выше в венозной крови на 7,1% ( $p > 0,05$ ).



Показатели свертываемости венозной и артериальной крови у экспериментальных животных при хроническом (3 месяца) воздействии сероводородсодержащего газа в концентрации  $70 \text{ мг/м}^3$ ,  $M \pm s$

Показатели	Венозная кровь		Артериальная кровь	
	Контроль №3	Опыт №3	Контроль №3	Опыт №3
PLT x $10^9/l$	$755 \pm 4,34$	$673 \pm 4,11^*$	$767 \pm 4,45$	$689 \pm 4,49^*$
ИАТ, %	$100 \pm 3,45$	$94 \pm 3,29$	$100 \pm 3,24$	$92 \pm 3,25$
BC, мин	$5,9 \pm 0,33$	$5,7 \pm 0,32$	$5,94 \pm 0,34$	$5,68 \pm 0,30$
РФМК, мг/100 мл	$3,8 \pm 0,44$	$4,2 \pm 0,54^*$	$3,2 \pm 0,37$	$3,9 \pm 0,46^*$
D-димер, %	abs	7(58,3%)	abs	6(50%)
XIIa-ЭЛ, мин	$7,65 \pm 0,43$	$7,9 \pm 0,45^*$	$7,85 \pm 0,46$	$8,1 \pm 0,51^*$
ф.Виллебранда, %	$94,1 \pm 3,56$	$107,4 \pm 3,99^*$	$96,2 \pm 3,57$	$109,4 \pm 3,61^*$
ФVIIIa, %	$85,4 \pm 2,23$	$94,8 \pm 2,45^*$	$85,6 \pm 2,31$	$95,1 \pm 2,46^*$
Антитромбин, %	$117,2 \pm 3,44$	$93,7 \pm 3,31^{**\square}$	$103,1 \pm 3,41$	$92,4 \pm 3,30^*$
Протеин С, Ед	$0,6 \pm 0,02$	$0,69 \pm 0,02^{###}$	$0,7 \pm 0,03$	$0,83 \pm 0,04^{###}$
Плазминоген, %	$79,4 \pm 1,45$	$70,9 \pm 1,43^*$	$79,3 \pm 1,46$	$70,7 \pm 1,41^*$
ИАП-1, Ед/мл	$2,7 \pm 0,65$	$3,6 \pm 0,71^{**\square}$	$2,75 \pm 0,66$	$3,7 \pm 0,72^{**\square}$
Индекс токсемии	$0,47 \pm 0,03$	$0,70 \pm 0,05^{***\square}$	$0,43 \pm 0,02$	$0,68 \pm 0,04^{***\square}$

\* - уровень статистической значимости между показателями опытной и контрольной группами (\* -  $p < 0,05$ , \*\* -  $p < 0,01$ , \*\*\* -  $p < 0,001$ ).

# - уровень статистической значимости между показателями опытных (вена/артерия) групп (# -  $p < 0,05$ ; ## -  $p < 0,01$ ).

□ - уровень статистической значимости между показателями опытных (3месяца/2месяца) групп (□ -  $p < 0,05$ ).

Показатель скорости лизиса фибринового сгустка (ХПа-ЭЛ) указывает на замедление процесса по сравнению с группой двухмесячного периода воздействия газа — на 14,5% ( $p<0,05$ ) в венозной, и — на 14,1% ( $p<0,05$ ) в артериальной крови (рисунок 12).

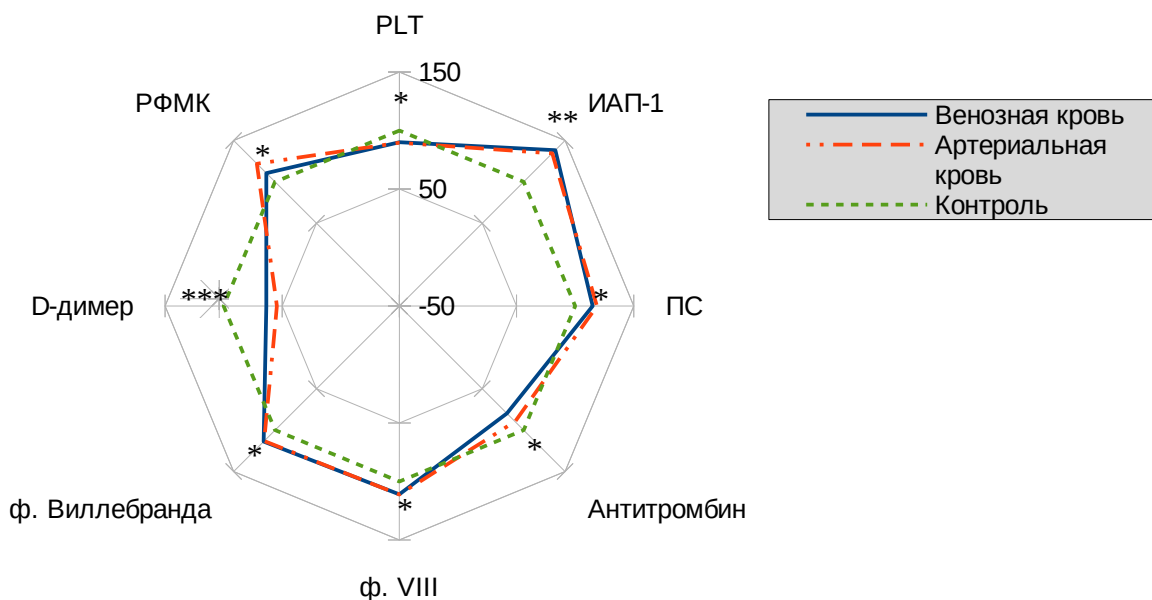


Рисунок 12. Показатели гемограммы крыс через 3 месяца хронического воздействия сероводородсодержащего газа ( $70 \text{ мг/м}^3$  по сероводороду)

Примечание: Примечание: данные на рисунке выражены в % относительно своей группы контроля; Уровень статистической значимости между опытной и контрольной группой соответствует \*-  $p<0,05$ , \*\* -  $p<0,01$ , \*\*\* -  $p<0,001$ .

Активность фактора Виллебранда увеличилась в равной степени как в артериальной, так и в венозной крови — на 13,8% ( $p<0,05$ ) по сравнению с контролем, но в артериальной крови активность показателя выше чем в венозной на 11,6% ( $p<0,05$ ) (рисунок 12).

Содержание фVIIIa возросло на 11,0% ( $p<0,05$ ) и 11,1% ( $p<0,05$ ) в венозной и артериальной крови соответственно (рисунок 12).

Количество антитромбина III уменьшилось в плазме венозной крови на 20,1% ( $p<0,01$ ), и на 10,4% ( $p<0,05$ ) — в артериальной по сравнению с контролем.

По отношению к группе двухмесячного периода воздействия ССГ в большей степени сократилось содержание антитромбина III в венозной крови (на 16,6%,  $p < 0,05$ ), чем в артериальной (на 5,9%,  $p > 0,05$ ). Содержание показателя в артериальной крови выше чем в венозной на 6,5% ( $p > 0,05$ ) (рисунок 12).

Как видно по данным, представленным в таблице 6, активность протеина С определялась выше в артериальной крови на 20,3% ( $p < 0,01$ ) по сравнению с показателем в венозной крови. По отношению к контролю активность протеина С оставалась выше контроля на 18,6% и 15% ( $p < 0,05$ ) в крови из артерии и вены соответственно. Но была зарегистрирована тенденция к уменьшению активности показателя в сравнении с группой двухмесячного периода ингаляции ССГ — на 14,4% ( $p < 0,05$ ) в артериальной и на 9,2% ( $p < 0,05$ ) в венозной крови.

Содержание плазминогена понизилось на 10,8% ( $p < 0,05$ ) в венозной, и на 10,8% ( $p < 0,05$ ) — в артериальной крови.

Увеличилась активность ИАП-1 в артериальной крови на 34,5% ( $p < 0,01$ ), в венозной — на 33,3% ( $p < 0,01$ ) по сравнению с контролем. В отношении группы двухмесячного периода воздействия поллютанта показатель возрос на 16,1 и 15,6% ( $p < 0,05$ ) в артериальной и в венозной крови соответственно (рисунок 12).

Индекс токсемии определялся выше на 48,9% ( $p < 0,001$ ) в крови из вены, и на 58,1% ( $p < 0,001$ ) — из артерии по сравнению с контролем. Возросло содержание МСМв в сравнении с группой двухмесячного периода ингаляции ССГ на 11,1% ( $p < 0,05$ ), и МСМа — на 11,5% ( $p < 0,05$ ). Исходя из данных, представленных в таблице 6, зафиксировано увеличение интегративного показателя эндотоксемии на фоне хронического периода воздействия ССГ, замедление скорости лизиса фибринового сгустка, уменьшение содержания естественных антикоагулянтов и ускорение общего времени свертывания крови.

Результаты четырех месяцев воздействия ССГ представлены в таблице 7. Отмечено достоверное уменьшение числа тромбоцитов на 18,9% ( $p < 0,05$ ) в венозной и на 18,2% ( $p < 0,05$ ) — в артериальной крови по сравнению с контролем.

Таблица 7

Показатели свертываемости венозной и артериальной крови у экспериментальных животных при хроническом (4 месяца) воздействии сероводородсодержащего газа в концентрации  $70 \text{ мг/м}^3$ ,  $M \pm s$

Показатели	Венозная кровь		Артериальная кровь	
	Контроль №4	Опыт №4	Контроль №4	Опыт №4
PLT x $10^9/l$	$755 \pm 4,56$	$615 \pm 4,53^*$	$767 \pm 4,59$	$629 \pm 4,54^*$
ИАТ, %	$100 \pm 3,45$	$121 \pm 3,48^{**\square}$	$100 \pm 3,45$	$116,4 \pm 3,41^{*\square}$
BC, мин	$5,98 \pm 0,64$	$5,1 \pm 0,61^*$	$5,99 \pm 0,64$	$5,2 \pm 0,62^*$
РФМК, мг/100 мл	$3,8 \pm 0,44$	$4,5 \pm 0,47^*$	$3,2 \pm 0,42$	$4,3 \pm 0,45^{***\square}$
D-димер, %	abs	$9 (90\%)^{***\square}$	abs	$8(80\%)^{***\square}$
XIIa-ЭЛ, мин	$7,64 \pm 0,94$	$9,0 \pm 0,97$	$7,9 \pm 0,98$	$8,8 \pm 0,96$
ф.Виллебранда, %	$94,1 \pm 2,34$	$110,4 \pm 2,67^*$	$96,2 \pm 2,34$	$116,6 \pm 2,68^*$
ФVIIIa, %	$85,4 \pm 1,75$	$100,9 \pm 2,36^*$	$85,6 \pm 1,76$	$101,4 \pm 2,37^*$
Антитромбин, %	$117,1 \pm 3,44$	$86,8 \pm 2,98^{**}$	$103,1 \pm 3,41$	$85,1 \pm 2,97^*$
Протеин С, Ед	$0,6 \pm 0,02$	$0,53 \pm 0,02^{*\#}$	$0,7 \pm 0,04$	$0,59 \pm 0,02^{*\#}$
Плазминоген, %	$79,5 \pm 1,45$	$64,3 \pm 1,41^*$	$79,3 \pm 1,45$	$64,8 \pm 1,42^*$
ИАП-1, Ед/мл	$2,7 \pm 0,65$	$4,3 \pm 1,21^{***\square}$	$2,75 \pm 0,65$	$4,35 \pm 1,22^{***\square}$
Индекс токсемии	$0,47 \pm 0,02$	$0,76 \pm 0,04^{***\square}$	$0,43 \pm 0,02$	$0,74 \pm 0,04^{***\square}$

\* - уровень статистической значимости между показателями опытной и контрольной группами (\* -  $p < 0,05$ , \*\* -  $p < 0,01$ , \*\*\* -  $p < 0,001$ ).

# - уровень статистической значимости между показателями опытных (вена/артерия) групп (# -  $p < 0,05$ ).

□ - уровень статистической значимости между показателями опытных (4месяца/3месяца) групп (□ -  $p < 0,05$ ).

Функциональная активность тромбоцитов по сравнению с контролем отмечена выше в венозной крови на 21% ( $p < 0,01$ ) и на 16,4% ( $p < 0,05$ ) - в артериальной. По отношению к группе с трехмесячным периодом воздействия ССГ способность к агрегации пластинок венозной крови выше на 28,7% ( $p < 0,01$ ), а артериальной — на 26,5% ( $p < 0,01$ ).

Общее время свертывания сократилось на 13,6% ( $p < 0,05$ ) в венозной и на 12,6% ( $p < 0,05$ ) — в артериальной крови.

Содержание РФМК в артериальной крови увеличилось через четыре месяца воздействия ССГ по сравнению с группой трехмесячного периода ингаляции на 10,3% ( $p < 0,05$ ). В сравнении с контролем в артериальной плазме РФМК больше на 34,4% ( $p < 0,001$ ), в венозной — на 18,4% ( $p < 0,05$ ) (рисунок 13).

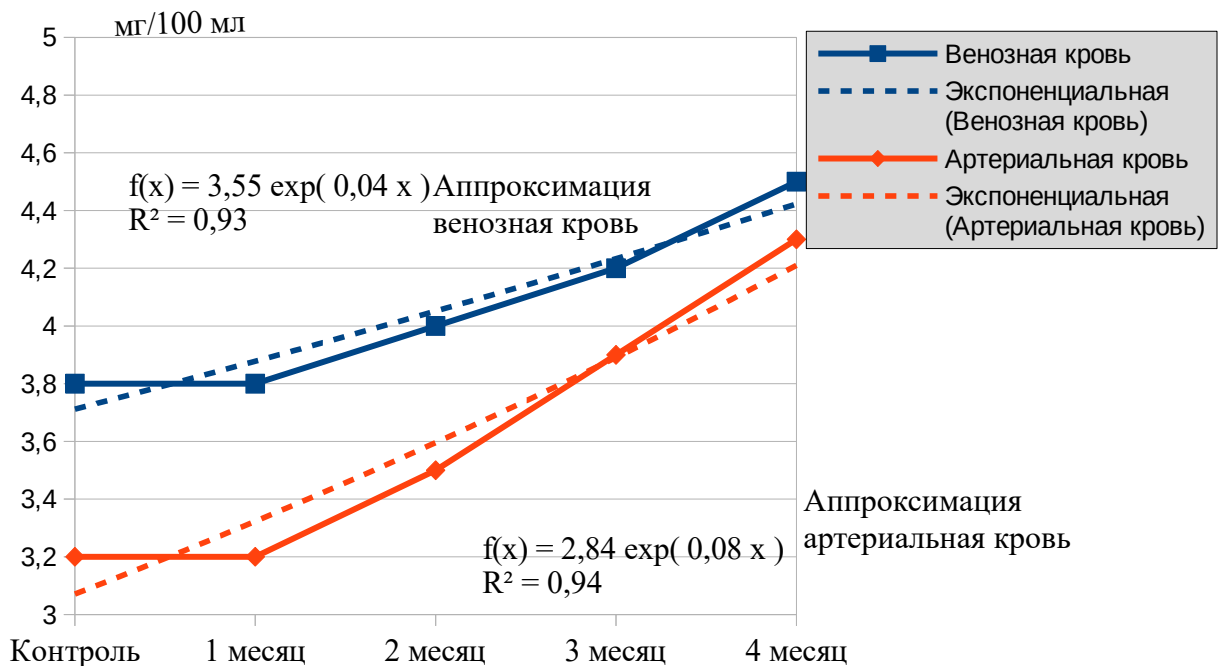


Рисунок 13. Изменение содержания РФМК при хроническом воздействии сероводородсодержащего газа  $70 \text{ мг/м}^3$  по сероводороду)

Было отмечено увеличение количества крыс с определяемым D-димером. Через четыре месяца воздействия ССГ показатель в венозной крови определялся у

90% ( $p < 0,001$ ) крыс, в артериальной — у 80% ( $p < 0,001$ ), что значительно выше контрольных групп животных, у которых D-димер не определялся.

Скорость XIIa-ЭЛ замедлилась в венозной крови на 16,9% ( $p < 0,05$ ), в артериальной — на 11,4% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем. В отношении группы трехмесячного периода воздействия ССГ замедление лизиса фибрина заметнее в венозной крови — на 13,9% ( $p < 0,05$ ), чем в артериальной — на 8,6% ( $p > 0,05$ ) (рисунок 14).

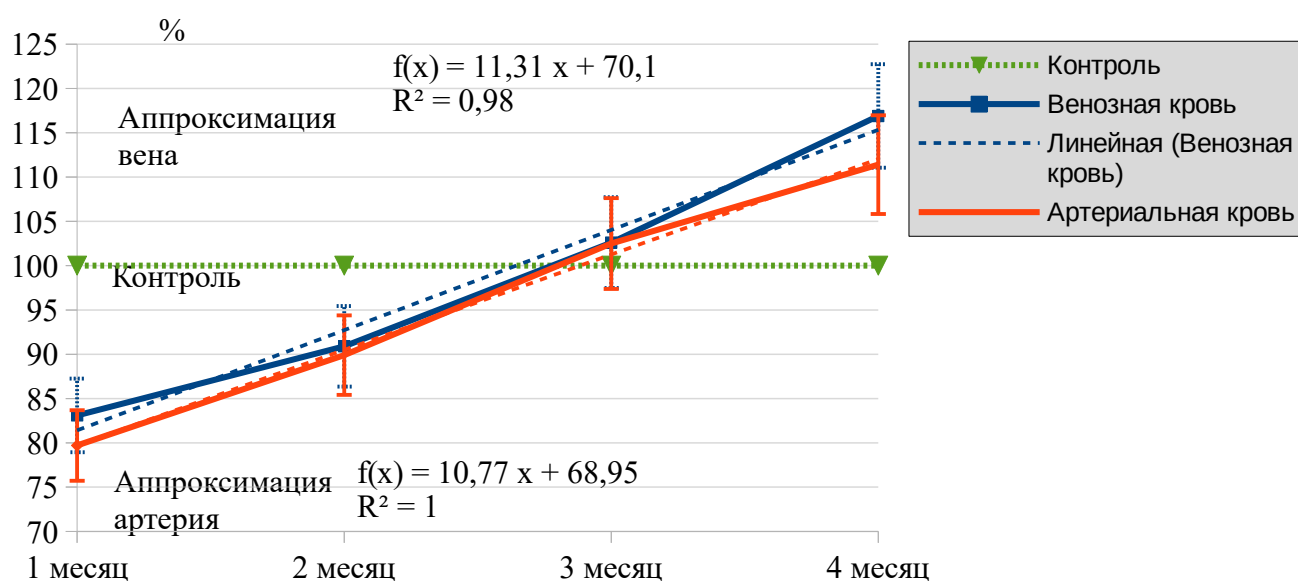


Рисунок 14. Изменение активности фXIIa-зависимого эуглобулинового лизиса при хроническом воздействии сероводородсодержащего газа 70 мг/м<sup>3</sup> по сероводороду)

Активность фактора Виллебранда возросла в артериальной крови на 16,0% ( $p < 0,05$ ), в венозной — на 17,3% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с венозной кровью. Содержание фактора VIIIa в артериальной плазме увеличилось на 18,5% ( $p < 0,05$ ), а в венозной — на 18,1% ( $p < 0,05$ ) (рисунок 15).

Через четыре месяца хронической ингаляции поллютанта значительно уменьшилось содержание антитромбина III венозной плазмы — на 25,9% ( $p < 0,01$ ), а артериальной — на 17,5% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с венозной кровью.

По отношению к группам меньшего, трехмесячного периода воздействия ССГ, уменьшение показателя в венозной крови составило 7,4% ( $p > 0,05$ ) и 8% ( $p > 0,05$ ) в венозной и артериальной плазме соответственно (рисунок 16).

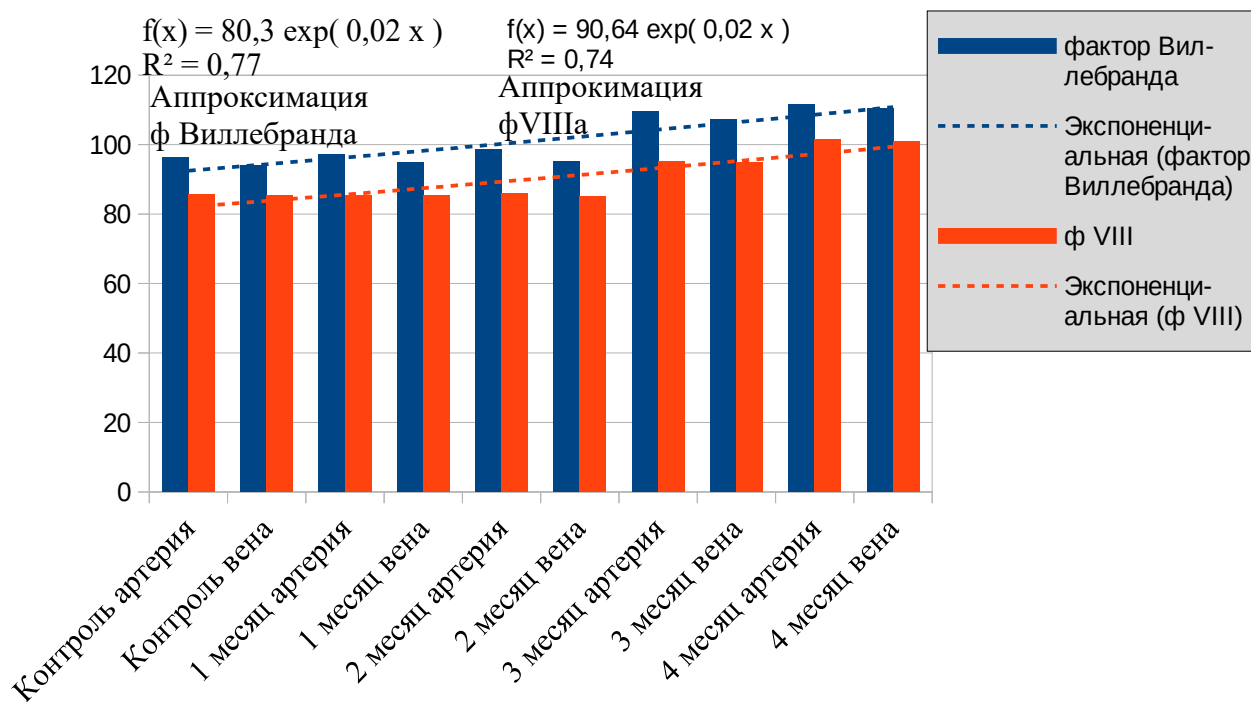


Рисунок 15. Изменение активности фактора Виллебранда и фVIIIa при хроническом воздействии сероводородсодержащего газа ( $70 \text{ мг/м}^3$  по сероводороду)

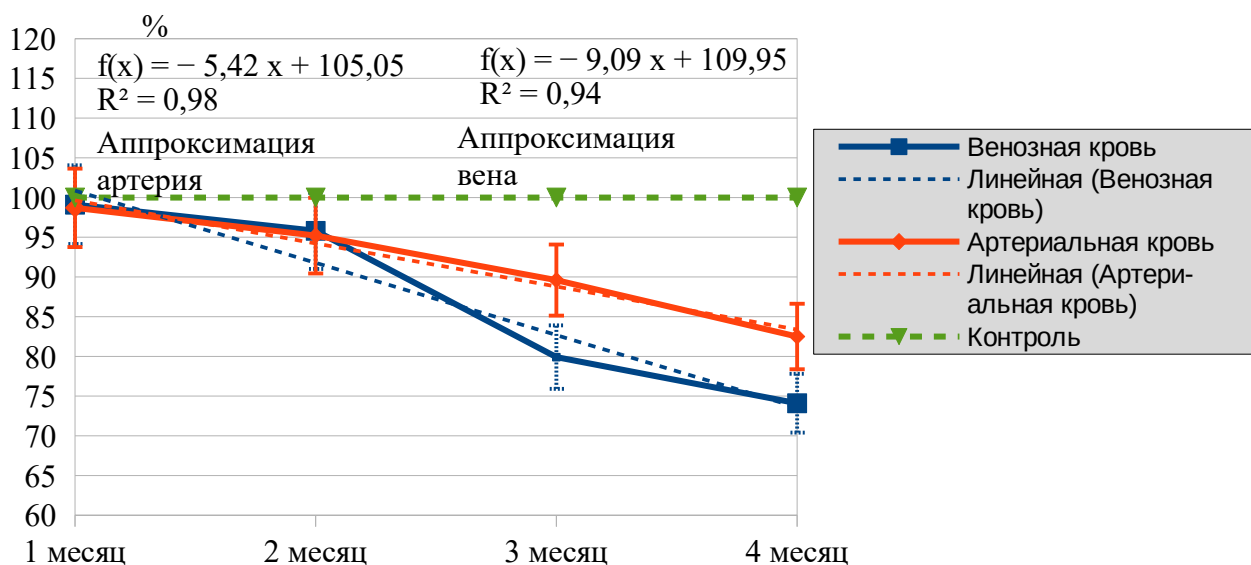


Рисунок 16. Содержание антитромбина III при хроническом воздействии сероводородсодержащего газа ( $70 \text{ мг/м}^3$  по сероводороду)

Активность протеина С уменьшилась в артериальной крови на 15,7% ( $p < 0,05$ ), в венозной — на 11,7% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем. Причем, по данным, представленным в таблице 9 видно, что артерио-венозная разница по показателю выражена в трехмесячной группе воздействия ССГ. Так, активность протеина С в трехмесячной группе опыта больше в плазме артериальной крови на 16,9% ( $p < 0,05$ ), а в четырехмесячной — на 10,2% ( $p < 0,05$ ).

Содержание плазминогена понизилось в венозной крови на 19,1% ( $p < 0,05$ ), в артериальной — на 18,3% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем. Наиболее активным периодом потребления плазминогена отмечено три и четыре месяца воздействия ССГ (рисунок 17).



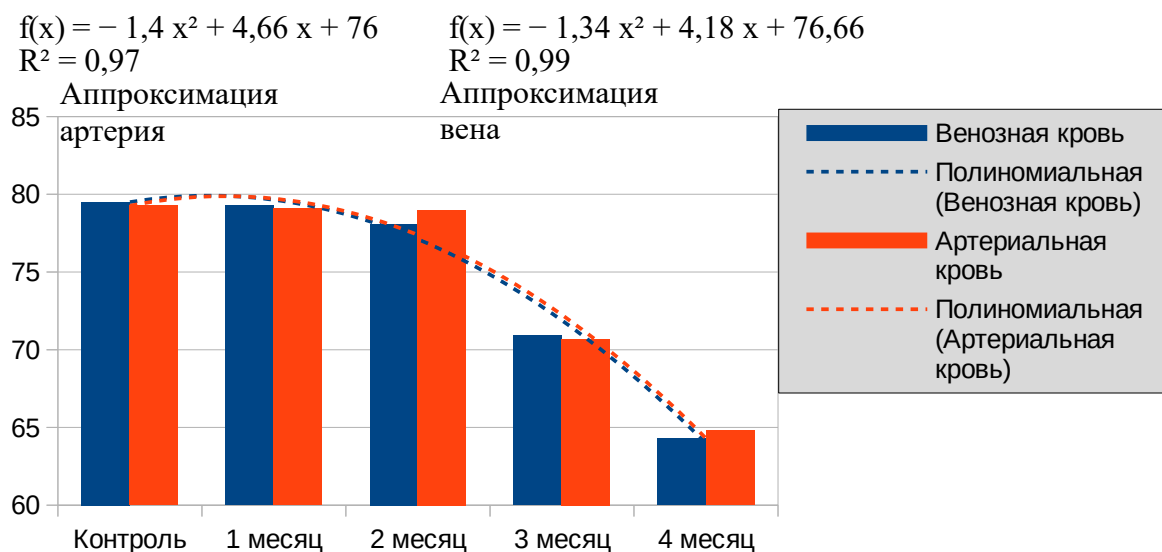


Рисунок 17. Содержание плазминогена при хроническом воздействии сероводородсодержащего газа ( $70 \text{ мг/м}^3$  по сероводороду)

Активность показателя ИАП-1 увеличилась после четырех месяцев воздействия ССГ на  $59,3\%$  ( $p < 0,001$ ) в плазме венозной и на  $58,2\%$  ( $p < 0,001$ ) — в артериальной крови. В сравнении с трехмесячной группой пребывания в эксперименте показатель возрос на  $19,4\%$  ( $p < 0,05$ ) в крови из вены, и на  $17,6\%$  ( $p < 0,05$ ) - из артерии (рисунок 18).

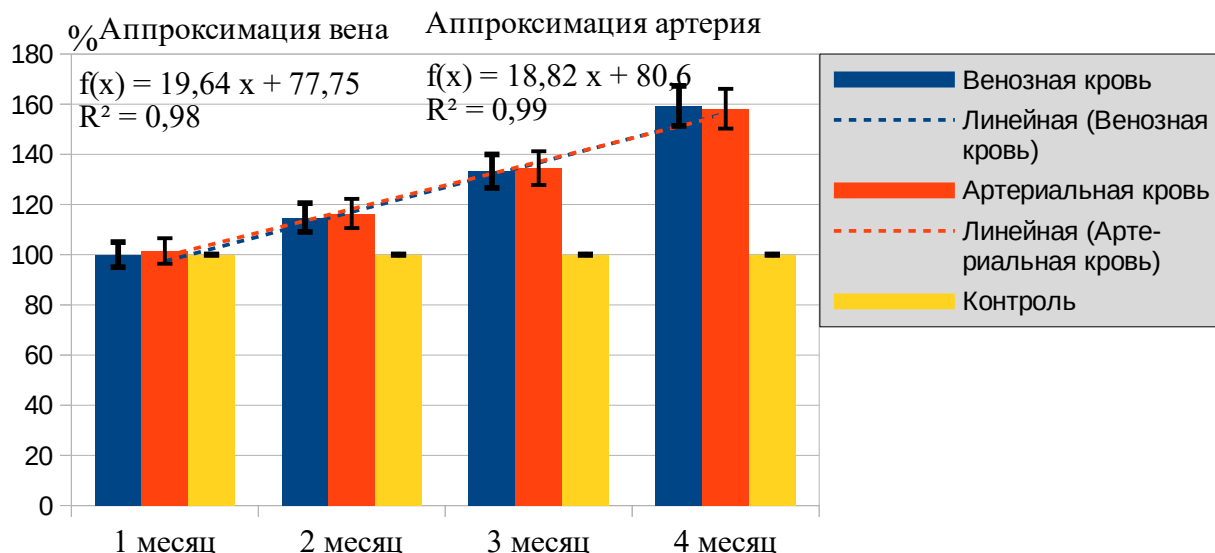


Рисунок 18. Показатель ИАП-1 при хроническом воздействии сероводородсодержащего газа ( $70 \text{ мг/м}^3$  по сероводороду)

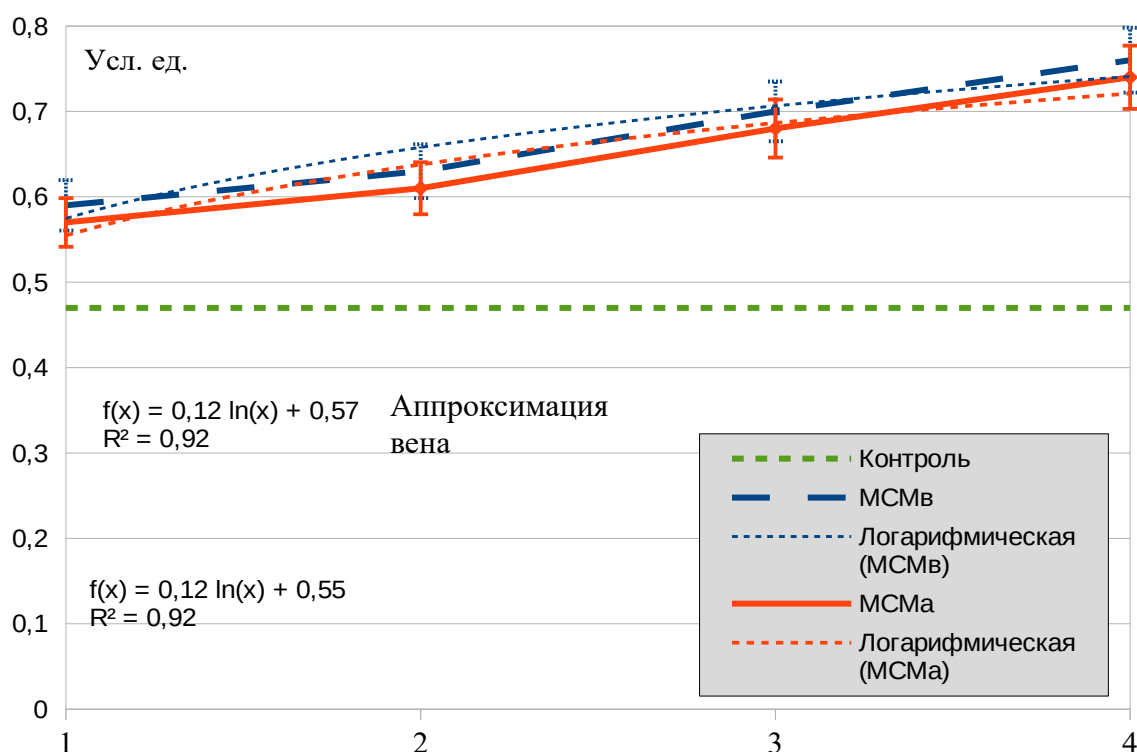


Рисунок 19. Содержание МСМ при хроническом воздействии сероводородсодержащего газа ( $70 \text{ мг/м}^3$  по сероводороду)

Индекс токсемии увеличился в артериальной крови на 72,0% ( $p < 0,001$ ), в венозной — на 61,7% ( $p < 0,001$ ) по сравнению с контролем. Содержание МСМа возросло на 9% ( $p < 0,05$ ), а МСМв на 9% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с трехмесячной группой пребывания в эксперименте (рисунок 19).

Таким образом, через четыре месяца хронического воздействия ССГ уменьшилось количество тромбоцитов, естественных антикоагулянтов, но артериовенозная разница сократилась к концу эксперимента. Время свертывания плазмы в опытных группах было заметно сокращено. Увеличилось содержание фVIIIa и активность фактора Виллебранда. Зафиксировано уменьшение содержания плазминогена, замедление процесса фибринолиза.

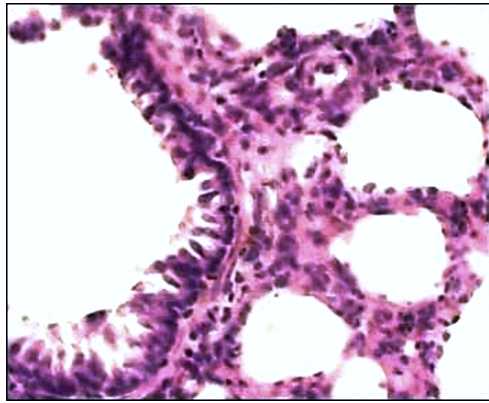
### **3.3. Морфологические изменения в ткани легких на фоне хронической ингаляции ССГ**

Морфофункциональные изменения в легких с целью оценки степени и глубины изменений метаболических их функций после хронического экспериментального воздействия сероводородсодержащего газа проведено с помощью следующих методик: окраска гематоксилином и эозином, по Ван Гизон и ГОФП (по Ли) на гладкую мышечную ткань.

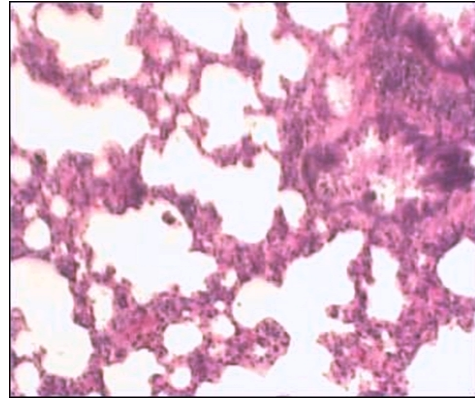
Изучение гистологических препаратов во всех изучаемых полях легких, окрашенных гематоксилином и эозином, в контрольной группе животных определены бронхи обычного строения. У оболочек определяются четкие границы, слизистая мелких бронхов демонстрирует хорошо выраженную складчатость, ее эпителий однослойный призматический с четко контурированными ядрами, расположенными на разных уровнях; клетки расположены на базальной мембране, определяемой в виде непрерывной и четкой границы. Бронхи хорошо проходимы, округлой формы в просвете не содержат инородных скоплений.

Терминальный отдел состоит из альвеолярных ходов и мешочков, имеющих на срезах округлую или овальную форму, с четкими краями. Альвеолярная стенка средней толщины, межальвеолярный матрикс представлен клетками, различными по своим тинкториальным свойствам - имеющим отношение как к структурам легких, так и к клеткам лимфоцитарно-макрофагального ряда с равномерным распределением относительно остальных структур (рисунок 20, А). Кровеносные сосуды ровные, имеют четкие контуры.

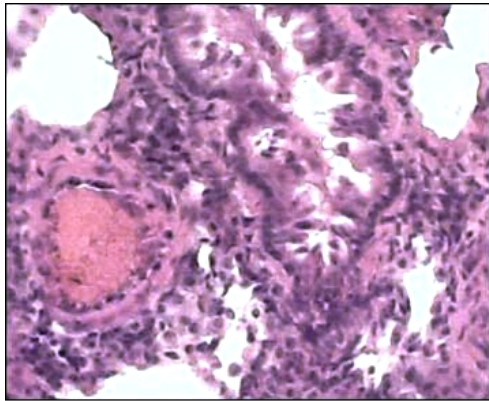
Окраска по Ван Гизон проявляет умеренную фуксинофилию в отношении соединительнотканых структур собственной пластинки слизистой, подслизистой оболочек и компонентов оболочек сосудов.



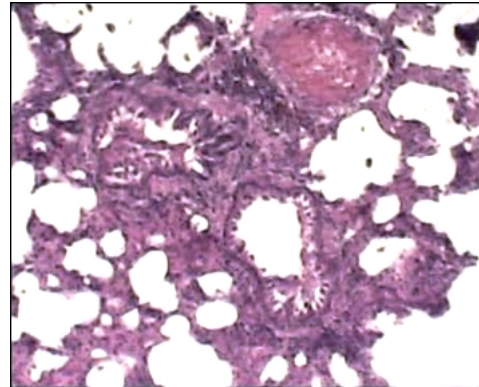
А



Б



В



Г

Рисунок 20. А. Строение терминального отдела легких в контрольной группе животных. Окраска гематоксилином-эозином. Ув: об.40, ок.10

Б. Изменения со стороны воздушности легких: чередование утолщенных и растянутых альвеолярных перегородок через 1 месяц хронического воздействия сероводородсодержащего газа в концентрации  $70 \text{ мг/м}^3$ . Окраска гематоксилином-эозином. Ув: об.20, ок.10.

В. Изменения со стороны сосудов и бронхов через 2 месяца воздействия сероводородсодержащего газа в концентрации  $70 \text{ мг/м}^3$ . Окраска гематоксилином-эозином. Ув: об.20, ок.10.

Г. Участки терминального отдела с ателектазом, признаками эмфиземы и альвеолами с разорванными стенками, а также деформация бронхов через 3 месяца воздействия сероводородсодержащего газа в концентрации  $70 \text{ мг/м}^3$ . Окраска гематоксилином-эозином. Ув: об.20, ок.10.

Окрашивание ГОФП демонстрирует гомогенную фуксинофилию мышечной оболочки бронхов и средней оболочки сосудистой стенки, в которой гладкомышечные клетки одинаково интенсивно воспринимают фуксин.

По истечении 1 месяца экспериментального воздействия природного газа в препаратах легких в изучаемых полях зрения отмечаются изменения, в основном,

со стороны воздушности легких в сторону её уменьшения (рисунок 20, Б). Происходит утолщение межальвеолярных перегородок из-за очаговой инфильтрации клетками лимфоцитарно-макрофагальной природы. В части полей зрения выявляются альвеолы, с истонченными и растянутыми стенками. Толщина бронхиальных стенок при сохранности послойного строения увеличилась, складчатость слизистой не изменилась, эпителий сохранил свои морфологические признаки. Изменение объемов эпителиальных клеток, скорее всего, связаны с активацией бокаловидных клеток под стимулирующим влиянием компонентов природного газа. Граница эпителия с собственной пластинкой неровная, местами размытая вследствие периваскулярного отека. Толщина мышечной оболочки не изменена, определяется незначительная периваскулярная клеточная инфильтрация.

Стенки сосудов в препаратах, окрашенных ГОФП, проявляют гомогенную фуксинофилию. Однако выявляются первичные признаки эндотелиальной дисфункции, проявляющиеся незначительным спазмом средней оболочки, в результате ядра клеток интимы определяются выбухающими в просвет сосуда и образующими единую цепочку. В некоторых бронхах определяются явления внутриклеточной гипергидратации, а также явления клеточной инфильтрации перибронхиального пространства. При окрашивании по Ван Гизон тинкториальные свойства структурных компонентов легких по истечению 1 месяца хронической ингаляции природного газа практически не изменились.

При изучении препаратов легких после 2 месяцев экспериментального воздействия определяется снижение воздушности легочной ткани относительно контрольной группы. Выявляются зоны ателектазов, чередующиеся с эмфизематозно расширенными участками. Толщина межальвеолярных перегородок при ателектазных изменениях нарастает за счет диффузной клеточной инфильтрации. Это приводит к уменьшению альвеолярных просветов, которые по толщине сопоставимы с размерами межальвеолярных перегородок. В просвете альвеол контурируется небольшое количество клеточных элементов.

Эмфизематозно измененные участки демонстрируют истончение стенки альвеол, просвет их при этом увеличен по сравнению с контролем.

Структурные компоненты бронхов также демонстрируют значительные изменения по сравнению с группой контроля. Толщина их стенок увеличена, некоторые из них содержат рубцовые деформации и находятся в спавшемся состоянии. Складчатость слизистой нарушена за счет отека и клеточной инфильтрации слизистой оболочки. Мышечная оболочка проявляет неоднородные тинкториальные свойства, в том числе за счет нарушения упорядоченного циркулярного расположения ядер миоцитов, что может быть связано с процессами формирования отека. В просвете бронхов определяется скопление инфильтратов, содержащих единичные клетки, что ведет к нарушению их проходимости. В перибронхиальном пространстве выявляются единичные очаговые скопления клеток напоминающих лимфоидные фолликулы.

Со стороны сосудистой системы определяются симптомы дисциркуляторного нарушения. Часть сосудов определяется в запустевшем состоянии, форменные элементы в них отсутствуют, в других определяются явления эритроцитарного стаза. Оболочки сосудов при окрашивании демонстрируют явления гетерогенности. Это является признаками прогрессирования отека, ведущего к дезорганизации и расслоению рядов мышечных клеток (рисунок 20, В). В периваскулярном пространстве определяются клеточные инфильтраты, интенсивно окрашенные гематоксилином.

При изучении состояния соединительнотканых компонентов в структурах легких не показало значительных изменения относительно результатов предыдущих месяцев. Препараты, окрашенные ГОФП, подтверждают полученные с помощью других методик результаты. Также отмечается гетерогенность мышечной оболочки сосудов и интенсивная перибронхиальная и периваскулярная клеточная инфильтрация. Таким образом, после 2 месяцев эксперимента клеточная инфильтрация бронхиальной стенки, межальвеолярных перегородок, периваскулярного пространства и сосудистых оболочек нарастает,

преимущественно клетками лимфоцитарно-макрофагального ряда. Развивается деформация бронхов с явлениями обструкции дыхательных путей и изменением воздушности легких. В паренхиме развиваются два разнонаправленных процесса: эмфизематозные изменения параллельно с ателектазами. Сосудистые нарушения характеризуются дисциркуляторными расстройствами.

По истечении 3 месяцев экспериментального воздействия морфологические признаки нарушения воздушности легочной ткани нарастают. Во всех изучаемых полях определяются как участки с ателектазом, так и с признаками эмфиземы. В пределах одного поля выявляются рядом с альвеолами с растянутыми, истонченными стенками, альвеолы, имеющие толстые перегородки, в несколько раз превышающие размеры самой альвеолы (рисунок 20, В). В альвеолярных перегородках определяются лейкоцитарные конгломераты, состоящие из клеток лимфоцитарно-макрофагального ряда. Местами определяются альвеолярные мешочки, имеющие разорванные стенки.

Что касается бронхиального дерева, то часть бронхи имеет рубцовые деформации, на разрезе звездчатой формы (рисунок 20, В). Послойное строение их нарушено за счет процессов отека и клеточной инфильтрации. В просвете определяется скопление клеточных масс на фоне неоднородно окрашенного, гомогенного вещества. Встречаются полипообразные выпячивания слизистой в просвет бронха. Эпителиальный пласт слизистой оболочки уплощен, отмечается уменьшение количества рядов клеток.

Определяемая ранее в виде четкой линии базальная мембрана данном этапе эксперимента определяется как неровная, прерывистая линия, исчезающая местами из-за клеточной инфильтрации клетками лимфоцитарно-макрофагального ряда. В перибронхиальном и периваскулярном интерстиции определяются базофильно окрашенные лейкоцитарные конгломераты, напоминающие лимфоидные фолликулы.

Состояние сосудистого русла свидетельствует о нарастании патологических изменений со стороны сосудов. Определяются кровеносные сосуды в спавшемся

состоянии с пустым просветом. Большая часть контурируемых сосудов выявляется в состоянии спазма, о чем свидетельствуют выбухающие в просвет сосуда ядра эндотелиальных клеток. При этом оболочки сосудов размыты из-за пропитывания и разволокнения структур. В периваскулярной области выявляются участки, проявляющие интенсивную эозинофилию и содержащие единичные клеточные элементы. Толщина стенок заметно не изменяется.

Через 3 месяца хронического воздействия природного газа при окрашивании по Ван Гизон выявляется интенсивная фуксинофилия собственной пластинки слизистой оболочки бронхов и перибронхиальной области, что связано с процессами коллагенообразования, то есть с усилением синтетической функции фибробластов. Места отложения коллагена носят гомогенный характер. Наиболее яркую реакцию дают кровеносные сосуды. Наибольшую фуксинофилию проявляют наружная оболочка сосуда и периваскулярное пространство (рисунок 20, Г).

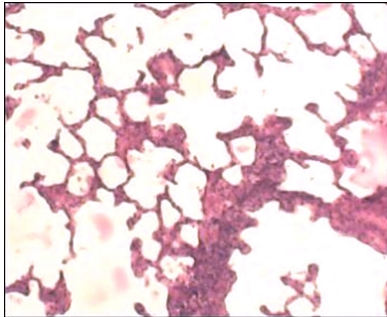
Здесь отложение коллагена происходит как гомогенно, так и пучками, при этом эластические волокна в составе сосудистой стенки подвергаются фрагментации, а кое-где - дезорганизации.

Через 4 месяца экспериментального воздействия определяются грубые деструктивные изменения. Бронхи большей части изучаемых полей зрения деформированы, в поперечном сечении имеют звездчатую форму и слабо выраженную складчатость слизистой оболочки. В основном, бронхи среднего и мелкого калибра имеют суженные просветы, обтурированные клеточными массами и слизью.

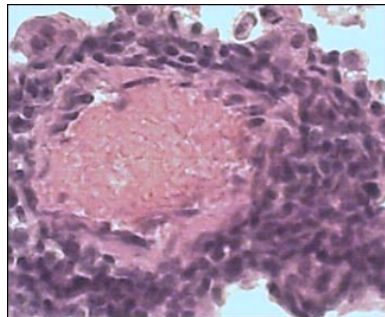
Эпителиальная выстилка слизистой оболочки инфильтрирована клетками, граница, соответствующая базальной мембране прерывистая или полностью исчезает на фоне мигрирующих из собственной пластинки клеток. Гладкие миоциты мышечной оболочки теряют правильное направление из-за клеточной инфильтрации и отека, что отражается в беспорядочном расположении их ядер. Отмечается увеличение воздушности легких, проявляющееся нарастанием



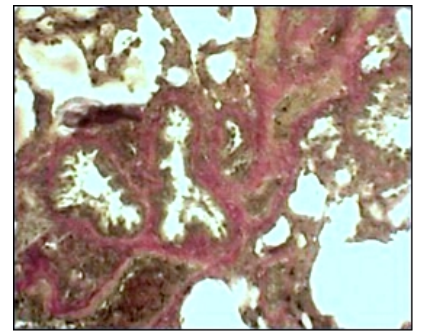
количества эмфизематозных участков, в которых альвеолы значительно расширены, имеют истонченные стенки с признаками разрывов (рисунок 21, А). В просвете альвеол присутствуют скопления гомогенно окрашенного эозинофильного вещества и лейкоцитарные конгломераты.



А



Б



В

Рис. 21. А. Значительно расширенные альвеолы с измененными стенками через 4 месяца воздействия сероводородсодержащего газа в концентрации  $70 \text{ мг/м}^3$ . Окраска гематоксилином-эозином. Ув: об.20, ок.10.

Б. Плотная периваскулярная инфильтрация через 4 месяца воздействия сероводородсодержащего газа в концентрации  $70 \text{ мг/м}^3$ . Окраска гематоксилином-эозином. Ув: об.40, ок.10.

В. Интенсивная фуксинофилия периваскулярного и берибронхиального пространств через 4 месяца воздействия сероводородсодержащего газа в концентрации  $70 \text{ мг/м}^3$ . Окраска по Ван Гизон. Ув: об.20, ок.10.

Изменения со стороны сосудистого русла также прогрессируют относительно предыдущего срока. Отмечается истинная дезориентация миоцитов мышечной оболочки. Эндотелиоциты выбухают в просвет. Отмечается плотная инфильтрация периваскулярного пространства по всей окружности сосуда (рисунок 21, Б).

В препаратах, во всех изучаемых структурах, окрашенных по Ван Гизон, отмечается нарастание признаков коллагенообразования (рисунок 21, В). Окрашивание межальвеолярных перегородок дает слабую положительную реакцию. Стенка бронхов демонстрирует усиление фуксинофилии в отношении собственной пластинки слизистой оболочки и мышечной оболочки, в которой

отложения коллагена носят пучковый характер. Подобные свойства проявляет перибронхиальное пространство.

Периваскулярное пространство проявляет также выраженную фуксинофилию в виде интенсивного диффузного и очагового окрашивания, переходящего в окружающую паренхиму. Определяется появление коллагена в мышечной оболочке кровеносных сосудов, причем очаги фуксинофилии теряют свою гомогенность в отношении красителя. Изучение состояния мышечной ткани методом ГОФП показало уменьшение объема и атрофию мышечной оболочки в стенке бронхов за счет замещения миоцитов межмышечной соединительной тканью. Сосудистая стенка демонстрирует уменьшение объемной доли гладких миоцитов в средней оболочке и гипертрофию интимы.

Таким образом, наиболее значимыми изменениями после трех и четырех месяцев экспериментального воздействия являются процессы ремоделирования структурных компонентов легочной ткани. Становятся явными процессы коллагенизации с последующим нарастанием их интенсивности по мере увеличения срока ингаляционного воздействия. Деструктивные процессы в легких, развивающиеся в ходе эксперимента свидетельствуют о хронизации и необратимости возникших изменений.

#### **3.4. Корреляционный анализ между показателями окислительно-метаболического, гемостазиологического и эндотоксемического статуса**

Учитывая поставленную цель и задачи данного исследования был проведен корреляционный анализ для выявления физиологических маркеров неблагоприятного воздействия ССГ. В результате сравнительного анализа были выявлены достоверные корреляционные взаимосвязи между интегративным показателем эндотоксемии и состоянием ПОЛ и гемостазиологической системой. Было выявлено, что в высокой положительной корреляционной взаимосвязи

находились индекс токсемии и МДА как в ткани легких ( $r = -0,93$ ,  $p = 0,02$ ), так и в тромбоцитах ( $r = -0,89$ ,  $p = 0,04$ ). В сильной прямой взаимозависимости отмечены показатель эндотоксикации и ДК в ткани легких ( $r = -0,97$ ,  $p = 0,01$ ) и тромбоцитах ( $r = -0,95$ ,  $p = 0,01$ ). Данные свидетельствуют об активации и росте интенсивности процессов ПОЛ на фоне увеличения содержания МСМ — суммарного содержания продуктов, характеризующих показатель эндотоксемии (простагландины, простациклин, тромбоксан, гистамин и т. д.) (таблица 8).

Корреляционные взаимосвязи между индексом токсемии и ПОЛ в течение хронического воздействия ССГ (70 мг/м<sup>3</sup>)

Таблица 8

Показатели		в/а градиент МСМ	
		R	P
МДА	Ткань легких	<b>0,93</b>	0,02
	Тромбоциты	<b>0,89</b>	0,04
ДК	Ткань легких	<b>0,97</b>	0,01
	Тромбоциты	<b>0,95</b>	0,01
Каталаза	Ткань легких	0,48	0,41
	Тромбоциты	0,47	0,42
СОД	Ткань легких	0,46	0,44
	Тромбоциты	0,46	0,44

Было выявлено исчезновение корреляционной взаимосвязи на поздних сроках воздействия поллютанта между показателями антиоксидантной защиты (каталазой, СОД) и индексом токсемии. Что может свидетельствовать об уменьшении координации систем и истощении резервов антирадикальной защиты.

По данным, представленным в таблице 9, видно, что в высокой отрицательной корреляционной взаимосвязи находились МСМв ( $r = -0,90$ ,  $p = 0,04$ ) и МСМа ( $r = -0,89$ ,  $p = 0,04$ ) крови с количеством тромбоцитов. С

увеличением содержания МСМ, продуцируемой, по большей части эндотелием капилляров легких, уменьшалось содержание тромбоцитов, причем по мере роста периода ингаляции ССГ артериовенозная разница нивелировалась.

В сильной прямой взаимосвязи находились маркеры активации процессов гемостаза РФМК и МСМа ( $r = 0,89$ ,  $p = 0,04$ ) и МСМв ( $r = 0,91$ ,  $p = 0,03$ ). Выраженной положительной была взаимосвязь содержания маркера тромбинемии D-димера с МСМа ( $r = 0,89$ ,  $p = 0,04$ ) и МСМв ( $r = 0,92$ ,  $p = 0,03$ ), указывая на рост предрасполагающих к тромбинообразованию признаков на фоне увеличения индекса токсемии.

В значимой положительной корреляционной взаимосвязи с интегративным параметром интоксикации находились показатели активности фактора Виллебранда ( $r = 0,87$ ,  $p = 0,05$ ) и фVIIIa (достоверно в артерии  $r = 0,87$ ,  $p = 0,05$ ).

Корреляционные взаимосвязи между индексом токсемии и параметрами системы гемостаза в течение хронического воздействия ССГ ( $70 \text{ мг/м}^3$ )

Таблица 9

Показатели		МСМв	МСМа
PLT	R	<b>-0,90</b>	<b>-0,89</b>
	P	0,04	0,04
ИАТ	R	0,44	0,33
	P	0,45	0,59
РФМК	R	<b>0,91</b>	<b>0,89</b>
	P	0,03	0,04
D-димер	R	<b>0,92</b>	<b>0,89</b>
	P	0,03	0,04
ХIIa-ЭЛ	R	0,52	0,42
	P	037	0,40
ф.Виллебранда	R	<b>0,87</b>	<b>0,87</b>
	P	0,05	0,05
ФVIIIa	R	0,84	<b>0,87</b>
	P	0,07	0,05

Антитромбин	R	<b>-0,89</b>	<b>-0,91</b>
	P	0,04	0,03
Протеин С	R	-0,17	-0,17
	P	0,76	0,8
Плазминоген	R	<b>-0,94</b>	<b>-0,89</b>
	P	0,02	0,04
ИАП-1	R	<b>0,90</b>	<b>0,90</b>
	P	0,04	0,04

Содержание естественного антикоагулянта антитромбина III плазмы было в сильной обратной взаимосвязи с МСМа ( $r = -0,91$ ,  $p = 0,03$ ) и МСМв ( $r = -0,89$ ,  $p = 0,04$ ) (рисунок 22).

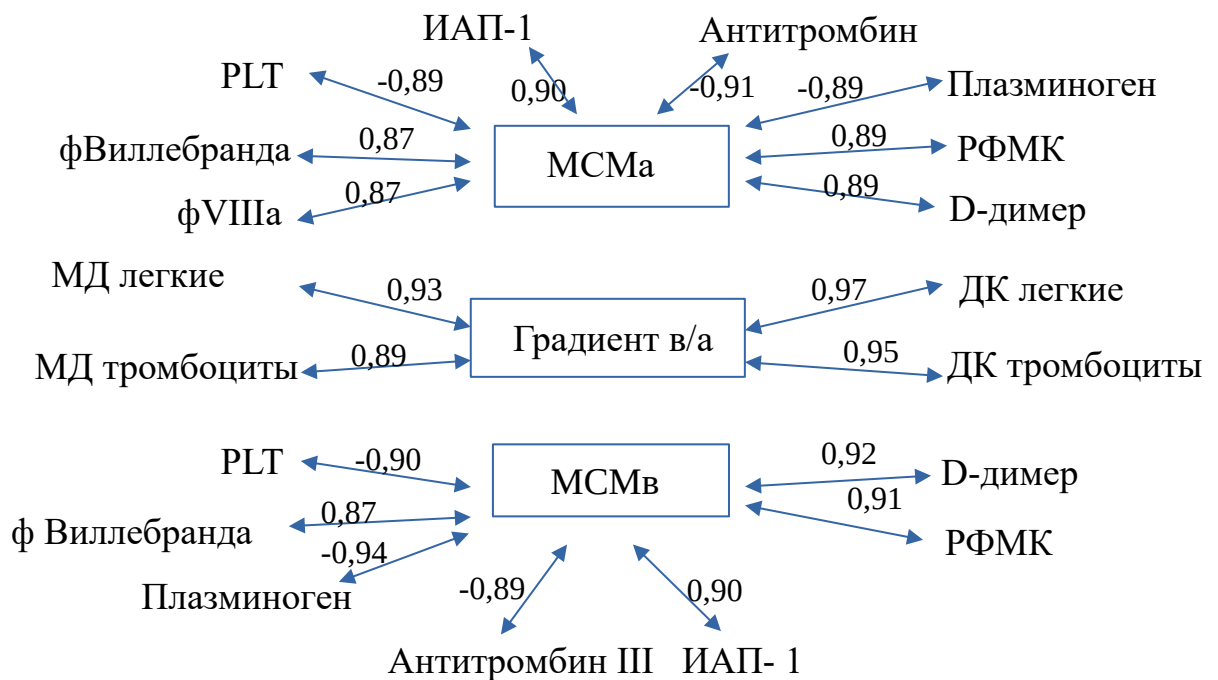


Рисунок 22. Наиболее значимые корреляционные взаимосвязи при хроническом воздействии сероводородсодержащего газа ( $70 \text{ мг/м}^3$  по сероводороду)

В сильной отрицательной взаимосвязи находились плазминоген и МСМв ( $r = -0,94$ ,  $p = 0,02$ ) и МСМа ( $r = -0,89$ ,  $p = 0,04$ ), что говорит о более выраженных процессах фибринолиза в венозной крови по мере роста индекса токсемии. Вследствие чего уменьшается содержание плазминогена плазмы.

В значительной положительной взаимосвязи отмечалась активность ИТАП-1 и МСМ ( $r = 0,90$ ,  $p = 0,04$ ) без артериовенозной разницы. Отмечалось увеличение активности показателя к концу эксперимента.

### **3.5. Оценка эффективности применения корректирующих средств на компоненты антиоксидантной системы и параметры системы гемостаза при хроническом воздействии (4 месяца) ССГ**

После анализа полученных данных для исследования возможности коррекции сформированных изменений к окончанию периода хронического воздействия ССГ было принято решение воздействия на тромбоцитарное и коагуляционное звенья системы гемостаза. Причем, выбранный нами гипоагрегант сочетает в себе и антиоксидантные свойства. Дипиридамола (Курантил) подавляет обратный захват аденозина в цельной крови и стимулирует антиоксидантную систему. ДНК аптамер ингибитор тромбина RE-31 блокирует фибриноген-связывающий центр тромбина и конкурентно ингибирует опосредованные им реакции.

Для исследования возможности корректирующего воздействия выбранных средств были созданы опытные группы с отдельным курсовым применением дипиридамола в течение 12 дней и разовым п/к способом — аптамера. Забор крови осуществлялся однократно из *arcus aortae* для максимальной возможности оценить метаболическую роль легких. Спектр изучаемых параметров крови выбран с учетом корреляционного анализа. Группа контроля (сравнения) в данной части эксперимента пребывала под воздействием ССГ 4 месяца. В таблице 10 представлены изменения состояния параметров крови в результате коррекции.

Коррекция изменений параметров системы гемостаза, вызванных сероводородсодержащим газом в концентрации 70 мг/м<sup>3</sup>, М ± s

Показатели	Контроль	Дипиридамо́л	Аптамер
МДА, нмоль/мг бел., PLT	24,8 ± 0,11	16,9 ± 0,26***##	24,7 ± 0,60
ДК, нмоль/мг, PLT	35,1 ± 0,43	31,4 ± 0,53*#	34,9 ± 0,31
Каталаза, Мкат/л *10 <sup>3</sup> , PLT	286,6 ± 4,41	349,6 ± 6,54***#	286,0 ± 3,95
СОД,%, PLT	34,9 ± 0,56	57,3 ± 0,65***##	34,8 ± 0,43
PLT x 10 <sup>9</sup> /л	629 ± 5,43	778 ± 6,54***##	631,1 ± 5,42
ИАТ, %	116,4 ± 3,22	88,3 ± 4,12***#	101 ± 3,69*
ВС, мин	5,2 ± 0,22	5,7 ± 0,32*	6,6 ± 0,21***#
РФМК, мг/100 мл	4,3 ± 0,31	4,0 ± 0,12	3,1 ± 0,14***##
D-димер, % особей	80 ± 1,12	80 ± 1,12	50 ± 1,05***#
XIIa-ЭЛ, мин	8,8 ± 0,69	8,1 ± 0,75	7,2 ± 0,56*#
ФVIII, %	101,4 ± 3,27	98,9 ± 2,96	85,9 ± 1,98*#
ИАП-1, Ед/мл	4,35 ± 0,21	3,9 ± 0,12*	3,1 ± 0,18***#
МСМ в/а	0,98 ± 0,24	1,01 ± 0,29*	1,02 ± 0,27***#

\* - уровень статистической значимости между показателями опытной и контрольной группами (\* - p < 0,05, \*\* - p < 0,01, \*\*\* - p < 0,001).

# - уровень статистической значимости между показателями опытных (дипиридамо́л / аптамер) групп (# - p < 0,05, ## - p < 0,01).

Под воздействием дипиридамо́ла содержание МДА понизилось на 31,9% (p < 0,01), а количество ДК уменьшилось на 10,5% (p < 0,05) по сравнению с контролем. Активность каталазы возросла на 22% (p < 0,01), а показатель СОД увеличился на 64,2% (p < 0,001) в сравнении с контрольной группой. Аптамер на

состояние оксидантно — антиоксидантной системы не повлиял. В группе применения дипиридамола возросло содержание тромбоцитов на 23,7% ( $p < 0,01$ ) по сравнению с контролем.

Функциональная активность пластинок крови понизилась в большей степени под влиянием дипиридамола — на 24,1% ( $p < 0,01$ ), чем после применения аптамера — на 13,2% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем (рисунок 23).

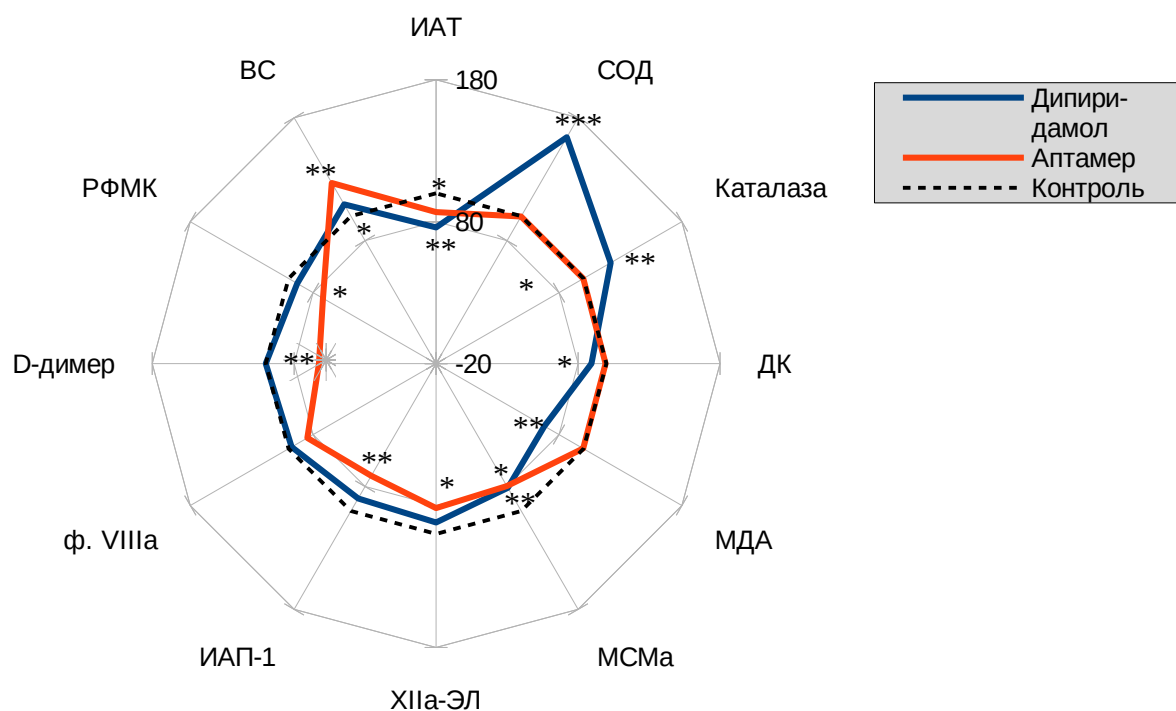


Рисунок 23. Коррекция изменения параметров системы гемостаза крыс при хроническом (4 месяца) воздействии сероводородсодержащего газа (70 мг/м<sup>3</sup> по сероводороду) \* - уровень статистической значимости между показателями опытной и контрольной группами (\* -  $p < 0,05$ , \*\* -  $p < 0,01$ , \*\*\* -  $p < 0,001$ ).

Показатель времени свертывания увеличился на 27% ( $p < 0,01$ ) после аптамера и на 9,6% ( $p < 0,05$ ) — после дипиридамола по сравнению с контролем.

Уровень маркеров активации системы гемостаза уменьшился в данных опытных группах. Содержание РФМК достоверно понизилось на 27,9% ( $p < 0,01$ ), а показатель D-димера был ниже на 30% ( $p < 0,05$ ) после применения аптамера (рисунок 23).

Скорость лизиса фибринового сгустка возросла на 18,2% ( $p < 0,05$ ) в группе применения аптамера.



Содержание фVIIIa уменьшилось после действия аптамера на 15,3( $p<0,05$ ) в сравнении с контролем. Значительно понизилась активность ИАП-1 — на 28,7% ( $p<0,01$ ) после применения аптамера, и — на 10,3% ( $p<0,05$ ) на фоне дипиридамола (рисунок 23).

Содержание МСМа понизилось на 20,3% ( $p<0,01$ ) после аптамера и — на 18,9% ( $p<0,01$ ) после применения дипиридамола по сравнению с контрольной группой (рисунок 23).

#### ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сосудистая система легких в значительной степени обеспечивает нереспираторные функции и, в частности, гемостазрегулирующую функцию. Значительная роль при этом отводится эндотелиальным клеткам легочных капилляров. Гидролитические ферменты на люминарной поверхности эндотелиоцитов обеспечивают баланс биологически активных веществ в плазме крови, позволяя рассматривать легкие не только как «физиологический фильтр», но и как продуцент коагулоактивных факторов (Wohlrab P. et al., 2018; Kim H.J. et al., 2018). Здоровая неповрежденная сосудистая выстилка капилляров легких способна понижать гиперкоагуляционную напряженность плазмы. В условиях повреждения фильтрационной или синтетической функции эндотелиоцитов повышается экспрессия специфических молекул адгезии данными клетками. Данные процессы способствуют сдвигу гемостатического баланса в прокоагулянтную сторону (Jain A. et al., 2018; Ding C. et al., 2017; Malerba M. et al., 2017).

Описываемые изменения поврежденным эндотелием могут происходить в условиях меняющейся неблагоприятной экологической обстановки, особенно воздушными поллютантами. Наиболее вероятным провокатором респираторных дисфункций в нашем регионе может служить сероводородсодержащий газ, добываемый в промышленных масштабах (Логинов П.В., Николаев А.А. 2013; Kudaeva I.V. et al., 2017). Учитывая интерес по всему миру к сероводородсодержащему газу как одному из трех важных газотрансмиттеров и неоднозначность взглядов на физиологическую роль данного соединения, было принято решение о проведении данного исследования.

Известно, что в крови, прошедшей через сосуды легких, часть компонентов свертывающей системы крови повышает свою активность, но в то же время, другая часть — понижает (например, протромбина, фактора X) (Буланова Е.Л., 2012). Эти изменения вновь исчезают после прохождения крови через печень. Поэтому мы осуществляли забор крови, исключая влияние печени.

При повреждении эндотелия и активации тромбоцитов начинают активно высвобождаться активные формы кислорода. Стимулированная тромбином

тромбоцитарная НАДФ — оксидаза способствует кислородному взрыву, увеличению  $O_2^-$  и росту агрегационной способности тромбоцитов (Шитикова А.С., 1999; Kuznik B.I., 2010; Rauova L. et al., 2009; Ware L.V. et al., 2007).

Взглядам на причины процессов ПОЛ в легких присуща двойственность. С одной стороны, необходимость синтеза сурфактанта повышает содержание липидов, что в совокупности со значительной площадью, доступной для окисления кислородом, способствует образованию свободных радикалов (Squier T.C., 2001). С другой стороны, процессы ПОЛ в легких менее интенсивны чем в других органах, по причине, характеризующей сурфактант не как субстрат, а как протектор, подавляющий образование активных форм кислорода (Нестеров Ю.В., 2003). ПОЛ связано с потреблением  $O_2$ , поэтому его влияние на процесс кажется очевидным и не нуждается в комментариях. Однако это не так. Поэтому мы для исследования свободно-радикальных процессов и способности систем антиоксидантной защиты выбрали ткань легких и тромбоциты.

Интактная сосудистая стенка обеспечивает антиагрегационную функцию, а также — низкую активность процессов ПОЛ, то есть обладает защитными свойствами. Ослабление антиагрегационного контроля стенкой сосудов способствует активации свободно-радикальных процессов и росту содержания агрегатов в плазме крови (Макурина О.Н., 2015; Солдатова О.А., 2015; Медведев И.Н. с соавт., 2014). В свою очередь, интенсификация образования свободных радикалов стимулирует функциональную активность пластинок крови (Кузнецова В.Л. с соавт., 2018; Ермолаева Е.Н. с соавт., 2014; Буланова К.Я. с соавт., 2009). Активация процессов липопероксидации способствует росту коагулоактивности, повышению уровня предтромботической готовности со стороны факторов плазменного звена системы гемостаза (Кузник Б.И., 2011; Лойко Е.Н., Самаль А.Б., 2002).

В качестве активатора процессов ПОЛ в результате повреждения сосудистого эндотелия может рассматриваться сероводородсодержащий газ, обладающий широким диапазоном физиологических эффектов: от гипокоагулянта и вазодиллятора до гиперагреганта в зависимости от продолжительности воздействия (Голубкина Е.В. с соавт., 2018). Интерес ученых к данному соединению обусловлен возможностью

рассматривать неоднозначное физиологическое значение данного газа — регулятора в случае эндогенного происхождения и ингаляционного поллютанта — при экзогенном поступлении.

Сероводородсодержащий газ использовался в данной работе из местного газо-конденсатного месторождения, добываемый и перерабатываемый на Астраханском ГПЗ. В условиях непрерывного расширения контактов рабочих с химическими веществами, обладающими широким спектром действия на разные системы организма, возникает необходимость разработки эффективных мер профилактики заболеваний рабочих газоперерабатывающей промышленности. Эти меры должны осуществляться в различных направлениях. Вследствие влияния таких факторов, как гипоксия ССГ, повышение содержания различных биологически активных веществ, складываются «благоприятные» условия для развития эндотелиальной дисфункции. Концентрация ССГ выбрана с учетом предыдущих исследований в нашей лаборатории для возможности максимального изучения механизма физиологических изменений и взаимосвязи ПОЛ и параметров системы гемостаза (Тризно Н.Н. с соавт., 2017; Мажитова М.В. с соавт., 2011).

Известно, что существует две основные системы перекисного окисления: НАДФ — зависимое ферментное ПОЛ (активность которого подавляется нагреванием) и аскорбат-зависимое перекисное окисление. Активные формы кислорода активно высвобождаются поврежденным эндотелием сосудов, а также активируемыми тромбоцитами путем стимуляции тромбоцитарной изоформы НАДФ — оксидазы. Один и тот же фермент, НАДФН — цитохром *c* редуктаза, является начальным звеном и в реакциях гидроксирования, и в процессах перекисного окисления (Владимиров Ю.А., 2002). Указанные процессы приводят к кислородному взрыву и привлекают пластинки крови к растущему тромбу (Кузник Б.И., 2005; Шитикова А.С., 1999; Hammond E.G., White P.J., 2011; Halliwell B.H., Gutteridge J.M., 2007).

Содержание МДА на фоне воздействия ССГ возрастало с увеличением продолжительности от первого до четвертого месяца эксперимента, указывая на активацию свободно-радикальных процессов. Рост этого показателя отмечен интенсивнее в легких, чем в тромбоцитах и уже через два месяца ингаляции

значительно возрос на 22,2% ( $p < 0,01$ ). Через три месяца МДА в легочной ткани увеличился на 25,9% ( $p < 0,01$ ). Затем разница по содержанию МДА между тканью легких и пластинками крови уменьшилась и через четыре месяца ингаляции показатель в легких стал выше на 16,8% ( $p < 0,05$ ).

Содержание ДК возрастало по мере увеличения периода воздействия ССГ. В тромбоцитах к концу эксперимента показатель возрос на 77,3% ( $p < 0,001$ ), в легких — на 23,2% ( $p < 0,05$ ). Процессы липопероксидации изначально активировались как в легких, так и в пластинках крови. Через два месяца эксперимента обозначилась достоверная разница между интенсивностью процессов ПОЛ в легких и тромбоцитах. Активнее развивались процессы липопероксидации в легочной ткани. За второй месяц ингаляции ССГ возрос показатель ДК в легких на 41,7% ( $p < 0,001$ ) и на 34,1% ( $p < 0,01$ ) — в тромбоцитах. Несколько иная тенденция отмечается через три месяца эксперимента. Интенсификация перекисного окисления выраженнее в тромбоцитах — на 67,7% ( $p < 0,001$ ), а в легких — на 15,2% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с исходным уровнем. Что можно объяснить значительной активностью антиоксидантной системы в пластинках крови по сравнению с легкими. Первично ССГ стимулирует ПОЛ в легких, необратимо блокируя цитохромоксидазу, т.е. третий пункт (перенос электронов от цитохромов  $a+a$  на молекулярный кислород) сопряжения дыхания и

3

фосфорилирования. Переносчики электронов за местом действия ингибитора переходят в окисленную форму, что приводит к гипоксии смешанного характера. Кроме того, стимулятором радикалообразования тромбоцитами являются увеличение NO — радикалов в плазме. В результате хронической ингаляции ССГ снижается активность эндотелиальной NO — синтазы и возрастает активность — индуцибельной (iNOS) (Голубкина Е.В., 2018). Индуцибельная NO — синтаза при стимуляции молекулами средней массы (МСМ) (по показателю эндогенной интоксикации, данные ниже), из поврежденного эндотелия легких в условиях действия ССГ приводят к переходу синтазы в активное состояние, что может способствовать увеличению активных форм азота NO и впоследствии — инициировать ПОЛ. Особенно активен в этом отношении пероксинитрит ( $ONOO^{\cdot}$ ), который усугубляет повреждение эндотелия

и увеличивает агрегацию (Silva J.M., Saldanha C., 2006). В условиях ацидоза и гипоксии, вызванных ингаляцией ССГ, данные эффекты усиливаются (Donatti A.F. et al., 2014; Cheung P.Y. et al., 2013; Fujino Y. et al., 2010). Нитрозативный и оксидативный стресс зачастую развиваются одновременно (Kohen R., Nyska A., 2002).

На ранних сроках эксперимента (первые два месяца) NO проявляет свойства антиоксиданта: мишенью прямого действия оксида азота являются Cu и Zn, входящие в состав супероксиддисмутазы (СОД) (Jomova K., Valko M., 2011). В физиологических условиях уровень СОД в два раза преобладает над NO, что препятствует образованию ONOO<sup>-</sup> (Соловьева А.Г. с соавт., 2016; Сурина-Мальшева Е.Ф., 2008). Активность СОД в нашем исследовании понизилась через три месяца действия ССГ на 11,3% ( $p < 0,05$ ) в тромбоцитах, и на 18,7% ( $p < 0,05$ ) — в ткани легких по сравнению с контролем. Каталазная защита в данный период снизилась достоверно только в легких — на 14,3% ( $p < 0,05$ ). В тромбоцитах антиоксидантная протекция по показателю активности каталазы статистически значимо уменьшилась через четыре месяца ингаляции газа на 10,6% ( $p < 0,05$ ), а по показателю СОД — на 26,9% ( $p < 0,01$ ). В легочной ткани ранняя активация свободно — радикальных процессов способствовала более скорому истощению антиоксидантной защиты. Так, каталазная активность в легочной ткани в данный период уменьшилась уже на 29,4% ( $p < 0,05$ ), а СОД — на 30,1% ( $p < 0,01$ ).

Трудности в оценке токсического действия индивидуальных компонентов МСМ связаны с тем, что каждый из них, взятый в отдельности, не проявляет токсические свойства. Токсический эффект обусловлен суммарным влиянием всех компонентов МСМ вследствие развития эффектов потенцирования и синергизма. Совместное действие простагландина, простациклина, тромбоксана, гистамина, серотонина, норадреналина, а также продуктов деградации фибрина, образующихся в условиях хронического действия ССГ, приводит к уменьшению антикоагуляционного потенциала плазмы крови, оттекающей от легких. Кроме того, увеличение индекса токсемии на фоне морфологических изменений эндотелия капилляров легких соответствует имеющимся научным исследованиям,

вывившим прямую зависимость между повышением проницаемости капиллярно-соединительнотканых структур и увеличением концентрации гистамина и серотонина в кровеносном русле, что приводит к срыву механизмов клеточной и тканевой адаптации, изменению проницаемости микрогемососудов и развитию капиллярно-трофических расстройств (Сосновских И.В., Сеницын С.П., 2011). В нашем исследовании содержание МСМ изначально было несколько выше в венозной крови, чем в артериальной. Артерио — венозная разница по показателю МСМ снижается к концу эксперимента. За четвертый месяц в артериальной крови увеличение МСМа интенсивнее: на 72% ( $p < 0,001$ ), а в венозной (МСМв) — на 61,7% ( $p < 0,001$ ). Понижение разницы указывает на повреждение эндотелия и интенсификацию деструктивных изменений. При хронической ингаляции ССГ скорость фибринолиза (ХПа — ЭЛ) возросла раньше в артериальной крови, уже через месяц воздействия, по сравнению с венозной на 20,3% ( $p < 0,01$ ). Скорость ХПа — ЭЛ на 16,9% медленнее в венозной крови и на 11,4% — в артериальной крови по сравнению с контролем через четыре месяца действия ССГ. Отмечалось замедление скорости фибринолиза в венозной крови в сравнении с трех — месячной группой на 13,9% ( $p < 0,05$ ), в то время как в артериальной плазме замедление показателя в отношении 3 — месячной группы не статистически значимое. Более низкие показатели скорости лизиса фибрина в венозной крови соответствуют более высокому содержанию МСМв и, в частности, продуктов деградации фибриногена и фибрина — РФМК и D — димера (Саидов Е.У., 1999; Тепляков А.И. с соавт., 1999). Что наблюдалось и в нашем исследовании: содержание РФМК в венозной плазме на 15,8% ( $p < 0,05$ ) выше по сравнению с артериальной через месяц действия газа.

Продвижение по капиллярам и адгезия к эндотелиальной стенке форменных элементов и макроагрегатов может влиять на изменение давления, кровотока при изменении оптимальных условий функционирования ферментных систем, например, формировании ацидоза и гипоксии в нашем эксперименте.

Легкие играют важную роль в поддержании гемостазиологического баланса крови. Установлено, что в эндотелии и эпителии легких синтезируются такие факторы свертывания, как тромбопластин, фVII и фVIII. Легочная ткань контролирует

концентрацию тромбопластина - то снижая, то повышая его количество в крови, протекающей через них. Кроме того, легочная ткань, синтезируя активатор пламиногена, обеспечивает переход пламиногена в плазмин, поддерживая таким образом его концентрацию в крови и обеспечивая оптимальный уровень фибринолиза. Мозаичность системы гемостаза является по большей части следствием гемостазрегулирующей функцией легких, во многом обусловленной фоновыми процессами липопероксидации (Порушничак Д.Е., Порушничак Е.Б., 2012; Бышевский А.Ш. с соавт., 2007; Yung L.M., et al., 2006).

Выявлено достоверное влияние легких на сосудисто — тромбоцитарное звено гемостаза: количество тромбоцитов в оттекающей от легких крови (артериальной) достоверно меньше, чем в венозной (Батайкина В.В., 2000). С одной стороны, этот факт может свидетельствовать о повышенном расходе тромбоцитов как трофической поддержки эндотелия (Симоненков А.П., Федоров В.Д., 1998). С другой стороны, имеются сведения об участии тромбоцитов в формировании микротромбов в самих легких (Мамаева М.Г. с соавт., 2014) в условиях диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС) крови и микроциркуляторных нарушений. Это подтверждается фактом "захвата" тромбоцитов легкими при развитии респираторного дистресс-синдрома взрослых (Батайкина В.В., 2000). В нашей работе количество тромбоцитов снижалось на протяжении всего периода ингаляции ССГ. В венозной крови через два месяца уменьшилось на 10,03% ( $p < 0,05$ ), в артериальной — на 10,4% ( $p < 0,05$ ). Через четыре месяца количество сократилось на 18,9% ( $p < 0,05$ ) и на 18,2% ( $p < 0,05$ ) соответственно. Причем, изначально наблюдалась тенденция к артерио — венозной разнице, понижающаяся к концу эксперимента. Данные указывают на снижение фильтрационного барьера легких в результате повреждения, вызванной хроническим воздействием ССГ.

В процессе увеличения продолжительности периода ингаляции ССГ развивалась функциональная недостаточность кровяных пластинок, которая выражалась нарастанием агрегационной и адгезивной способности тромбоцитов на фоне снижения их дезагрегационных свойств. Так, после спада индуцированной агрегационной активности через два месяца на 15% ( $p < 0,05$ ) в артериальной крови и на 12% ( $p < 0,05$ )



— в венозной, отмечен подъем активности этого показателя к четвертому месяцу наблюдения на 16,4% ( $p < 0,05$ ) и на 21% ( $p < 0,01$ ) соответственно. Интактность тромбоцитов по отношению к ССГ на ранних сроках сменяется необратимой агрегацией и адгезией («вязкий метаморфоз» тромбоцитов) на поздних. В микрогемодиализаторное русло выбрасываются различные биологически активные субстраты, что служит пусковым механизмом процесса увеличения коагуляционного потенциала плазмы крови.

О степени повреждения эндотелия можно судить по уровню фактора Виллебранда (fW) — одного из маркеров повреждения эндотелия (Вериго Я.И. с соавт., 2014; Соколов Е.И. с соавт., 2013). Фактор Виллебранда связывается, в основном, с рецепторами тромбоцитов (Pb, Pb-IIIa, являющихся гликопротеинами), способствуя адгезии тромбоцитов к поврежденному участку стенки сосуда. Кроме того, содержит центры связывания с коллагеном базальной мембраны подэндотелия, образует комплекс с фVIII, предохраняя его от протеолиза. По мере увеличения продолжительности периода воздействия ССГ увеличивалась активность фактора. Через три месяца она возросла на 13,8% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем как в артериальной, так и венозной крови. Причем, в артериальной крови активность показателя выше на 11,6% ( $p < 0,05$ ). Это может объясняться тем, что легкие, имея наиболее разветвленную микроциркуляторную сеть и включаясь в общий патологический процесс повреждения эндотелия, сами становились дополнительным источником fW, способствующим дальнейшей активации тромбоцитарной агрегации при хроническом действии поллютанта.

Эндотелий легких способен синтезировать факторы как свертывающей (тромбопластин, фактор VII, фактор VIII), так и противосвертывающей (гепарин) систем крови, активатор плазминогена и ингибиторы активатора плазминогена (Shute J.K. et al., 2018; Chimenti L. et al., 2017). Однако обычно легкие рассматриваются, прежде всего, как коагулолитический фильтр, снижающий гемостатический потенциал и повышающий фибринолитическую активность крови. Что касается фактора VIII, то бытовавшее ранее мнение о его исключительной связи с развитием кровоточивости (дефицит фактора VIII — одна из причин гемофилии) было существенно дополнено

работами, показавшими, что повышенная активность фактора VIII может считаться четким протромботическим фактором. Установлено, что повышенный уровень фактора VIII является независимым, высокоспецифичным фактором риска тромботических состояний. Кроме того, было продемонстрировано, что повышение активности фактора VIII связано, главным образом, с его повышенным синтезом. Следует, однако, подчеркнуть, что увеличение уровня фактора VIII – это предрасполагающий к тромбозу фактор, но не маркер остроты сосудистого события, и повышение данного фактора регистрируется на протяжении от 3 месяцев до 4 лет с момента развития сосудистой катастрофы (Гераскина Л.А. с соавт., 2009; Домашенко, М. А. с соавт., 2007). В нашем исследовании уже после трех месяцев хронической ингаляции ССГ отмечалось увеличение фактора на 11,0% ( $p < 0,05$ ) в венозной и 11,1% ( $p < 0,05$ ) — в артериальной крови по сравнению с контролем. Через четыре месяца показатель возрос на 17,3% ( $p < 0,05$ ) и на 16,0% ( $p < 0,05$ ) соответственно. Причем, коррелирует фVIII с показателем содержания МСМ больше в артериальной крови ( $r = 0,87$ ;  $p = 0,05$ ), указывая на первоочередную роль легочного эндотелия в обеспечении фактором артериальной крови в условиях действия ССГ.

Среди физиологических (первичных) антикоагулянтов ведущая роль принадлежит антитромбину III (АIII) — плазменному кофактору гепарина. В физиологических условиях не наблюдается достоверных колебаний активности АIII до и после прохождения крови по малому кругу кровообращения. Но в условиях гиперкоагуляции артерио — венозная разница смещается в сторону снижения антикоагулянтного потенциала "после легких". Исследования содержания антикоагулянтов (АIII, протеина С) в легочной вене, легочной артерии и периферической вене показывают значительное уменьшение их после манипуляций на легком, как в эксперименте, так и в клинике (Лиханос О.В., 2011; Батайкина В.В., 2000). Содержание АIII в венозной крови увеличивалось через один и два месяца воздействия ССГ, причем в венозной плазме уровень показателя выше по сравнению с артериальной на 12,6% ( $p < 0,05$ ). Но в дальнейшем, к концу эксперимента отмечалось понижение показателя на 25,9% ( $p < 0,01$ ) и на 17,5% ( $p < 0,05$ ) в венозной и артериальной крови соответственно. АIII

активнее потреблялся в венозной крови, причем особенно интенсивно в течение третьего месяца пребывания в эксперименте. Очевидно, в данный период смещение гемостазиологического баланса в сторону гиперкоагуляции происходило на фоне активного формирования тромбина интенсивнее в венозной крови, в то время как более активный фибринолиз в артериальной крови поддерживал гипокоагулянтный потенциал плазмы.

Активность ПС в данном исследовании была выше в артериальной крови по сравнению с венозной, причем максимально — через два месяца ингаляции ССГ: на 34,3% ( $p < 0,001$ ). В то время, как в венозной активности показателя выше контроля на 25,7 ( $p < 0,001$ ). Установлено, что количество тромбомодулина синтезируется больше в артериальной крови (Кузник Б.И., 2010; Петрищев Н.Н., Папаян Л.П., 1999). К концу эксперимента артерио—венозная разница по данному показателю нивелируется и отмечается общая тенденция к снижению активности ПС: на 15,7% ( $p < 0,05$ ) и на 11,7% ( $p < 0,05$ ) в артериальной и венозной плазме соответственно. Данные указывают на общее истощение антикоагулянтов через четыре месяца хронического воздействия ССГ.

О влиянии легких на коагуляционный гемостаз можно судить по изменению содержания и активности плазменных факторов свертывания, динамике хронометрических тестов коагуляции и содержанию продуктов коагуляции фибриногена, продуктов его деградации, являющихся вторичными антикоагулянтами, продуктами плазминового расщепления фибрина — D-димера. Показатель характеризует степень фибринолитической активности и внутрисосудистого отложения фибрина. Так, через четыре месяца воздействия ССГ возросло число крыс с превышающим порог показателем (500 нг/мл) по сравнению с контролем. В артериальной крови D-димер определялся у 80% ( $p < 0,001$ ), а в венозной — у 90% ( $p < 0,001$ ) животных.

Содержание РФМК увеличивалось по мере роста периода ингаляции ССГ. Уровень показателя выше и у интактных крыс (на 15,8%,  $p < 0,05$ ), и у опытных — в венозной крови по сравнению с артериальной. Коррелирует показатель с интегративным показателем токсемии также больше в венозной плазме ( $r = 0,91$ ;  $p =$

0,03) содержится больше в вене. Но интенсивнее прирост за четвертый опытный месяц происходит в артериальной крови: на 10,3% ( $p < 0,05$ ). В то время как в венозной плазме изменения в этот период не статистически значимы. Данный показатель указывает на то, что более активная фибринолитическая активность на фоне действия ССГ происходит в артериальной плазме и что более длительный период времени (три месяца) баланс системы гемостаза не смещается в сторону тромбообразования. Но на четвертом месяце эксперимента развивается дисфункция и повреждение сосудистого эндотелия легких, а также рост содержания «микровезикул» тромбоцитов в более кислых рН условиях, о чем свидетельствует увеличение в крови «от легких» маркеров тромбинемии (D-димера, РФМК).

В результате активации процессов фибринолиза, активно идет потребление субстрата — плазминогена на протяжении всего хронического периода воздействия ССГ: на 19,1% ( $p < 0,05$ ) и на 18,3% ( $p < 0,05$ ) — в венозной и артериальной крови соответственно. Уменьшение содержания показателя свидетельствует об активном потреблении и предшествующем синтезе его активатора легочным эндотелием — тканевого активатора плазминогена (ТАП). Так, содержание плазминогена сократилось в венозной крови на 19,1% ( $p < 0,05$ ), в артериальной — на 18,3% ( $p < 0,05$ ). О понижении уровня ТАП и торможения фибринолиза свидетельствует рост активности его ингибитора — ИАП – 1: на 59,3% ( $p < 0,001$ ) и на 58,2% ( $p < 0,001$ ) — в венозной и артериальной плазме соответственно. Кроме того, высвобождение ИАП – 1 эндотелием капилляров легких также свидетельствует о его повреждении (Баркаган З.С., Момот А.П., 2008; Воробьев А.И., Галстян Г.М., 2009).

Не выявлено достоверного влияния легких на активность факторов внешнего пути свертывания (протромбинового комплекса) (Лысенков С.П. с соавт., 2002). Несмотря на то, что легкие способны частично синтезировать компоненты, определяющие активность протромбинового комплекса (фактор VII, тромбопластин, гепарин), все-таки в большей степени активность этих факторов зависит от функции печени — основного места их синтеза. Поэтому в данной работе исследовано общее время свертывания плазмы (ВС), которое отражало динамику свертывания плазмы венозной и артериальной крови на протяжении эксперимента. Отмечена фазность

изменений, характеризующаяся увеличением ВС через первые два месяца ингаляции на 20,3% ( $p < 0,05$ ) и на 22,7% ( $p < 0,05$ ) в венозной и артериальной крови соответственно. Сокращение показателя ВС отмечено к концу ингаляционного периода на 13,6% ( $p < 0,05$ ) в венозной и на 12,6% ( $p < 0,05$ ) — в артериальной крови. Увеличение ВС в ранние сроки эксперимента в артериальной крови обусловлено большим количеством фибринолиз активизирующих факторов, синтезируемых эндотелием легких и альвеолярными макрофагами (тканевого активатора пламиногена, например) и поглощением ингибиторов фибринолиза (ИАП – 1 тромбоцитами). В венозной крови антикоагулянтная активность плазмы определялась преимущественно за счет высокого содержания АШ, который обладает выраженной антитромбинной активностью, сохраняемой длительный период циркуляции по мере удаления от легких и циркуляции по большому кругу. Высокий уровень антиоксидантной защиты (каталаза, СОД) в данный период обеспечивает гипоагрегацию пластинок крови.

Корреляция тромбоцитарных и плазменных отклонений с активностью МСМ свидетельствует о том, что отклонения морфо — функциональных параметров являются одним из механизмов дисфункции эндотелия. О дискоординации систем свидетельствует уменьшение корреляции между индексом токсемии и показателями антирадикальной защиты — каталазы, СОД. Рост содержания МДА и ДК с увеличением МСМ к концу эксперимента находился в прямой сильной корреляции, что указывает на взаимосвязь интенсивности процессов прооксидации и дезорганизации клеток легких с увеличением периода хронического воздействия ССГ. Выраженные корреляционные взаимосвязи с гемостазиологическими показателями (количеством тромбоцитов, РФМК, D – димером, фактором Виллебранда, фVIII, АШ, пламиногеном, ИАП – 1) указывают на интегративную взаимосвязь показателей системы гемостаза и процессов ПОЛ в зависимости от морфо – функционального состояния сосудистого эндотелия капилляров легких в условиях ингаляции ССГ.

Наряду с тромбоцитами в формировании микротромбоза принимают участие и другие клеточные элементы и субстраты: описана важная роль альвеолярных макрофагов, вырабатывающих прокоагулянтные факторы — тканевой фактор и фV (Барабаш Р.А., Макаров И.Ю., 2018; Корж Е.В., 2006). Повышенная активность ПОЛ

при сочетании артериальной гипертензии с метаболическим синдромом тоже повышает агрегационные свойства тромбоцитов.

Выявленные отклонения параметров сосудисто — тромбоцитарного гемостаза, характеризующиеся ослаблением антитромбогенного потенциала, усилением необратимой агрегации кровяных пластинок, процессов липопероксидации, повышением внутриклеточного содержания биоаминов, расширяет представление о легких, как органа, обеспечивающего исключительно газообмен. Достаточно большой «поток» научных статей позволяет говорить об активной метаболической активности легких. Наличие многочисленных ферментов, рецепторов, а также особенности анатомического расположения легких позволяет говорить о важнейшей роли легких, как органа гуморального контроля различных параметров гомеостаз. Полученные данные позволяют считать, что в физиологических условиях легкие оказывают не гипокоагулирующее, а, скорее, регулирующее влияние на коагуляцию (Лысенков С.П. с соавт., 2001; Gezelius E. et al., 2018; Du H. et al., 2018; Reihill J. et. al., 2017).

Морфологическая часть данного исследования показала интенсификацию клеточной инфильтрации бронхиальной стенки, межальвеолярных перегородок, периваскулярного пространства и сосудистых оболочек к концу четвертого месяца хронической ингаляции ССГ. Отмечался рост числа клеток лимфоцитарно-макрофагального ряда в перибронхиальном и периваскулярном интерстиции, в просвете альвеол — лейкоцитарные конгломераты. Гипокоагулянтный потенциал крови на ранних сроках воздействия ССГ объясняется способностью альвеолярных макрофагов активировать фибринолиз, фагоцитировать фибрин и продукты его распада. Данная активность макрофагов сохранялась в первые два месяца ингаляции ССГ, на фоне достаточного синтеза ТАП эндотелием сосудов легких. По мере увеличения периода эксперимента происходит ремоделирование структурных компонентов легочной ткани и, особенно, эндотелия, что заметно при окрашивании по Ван Гизон, так как фуксинофилия собственной пластинки слизистой оболочки бронхов и перибронхиальной области связана с процессами коллагенообразования, то есть с усилением синтетической функции фибробластов. Образующийся фибрин в

процессе активации системы гемостаза служит «матрицей» для фибробластов. Росту коагулирующего потенциала плазмы способствуют альвеолярные макрофаги, вырабатывающие такие факторы, как тканевой тромбопластин и фV (Барабаш Р.А., Макаров И.Ю., 2018). Кроме того, миграция лейкоцитов в периваскулярном интерстиции может быть объяснена увеличением продуктов тромбообразования (РФМК, D – димер), так как они являются мощными хемокинами.

Корреляция тромбоцитарных и плазменных отклонений с активностью МСМ свидетельствует о том, что отклонения морфо – функциональных параметров являются одним из механизмов дисфункции сосудистого эндотелия легких.

Учитывая рост агрегационных свойств тромбоцитов, активизацию процессов ПОЛ, тромбинную направленность действия хронической ингаляции ССГ были подобраны средства коррекции: антиагрегант и антикоагулянт, блокирующий действие тромбина, дипиридамола и ДНК — аптамер ингибитор тромбина (RE-31). Блокируя обратный захват аденозина, выделяемого эндотелием, дипиридамола ингибирует агрегацию, индуцированную различными индукторами и потенцирует антитромбоцитарные эффекты экзогенного аденозина, кроме того, данный препарат стимулирует антиоксидантную защиту (Мазуров А.В., с соавт. 2014; Kim Н.Н., 2018).

На фоне применения дипиридамола понизилось содержание МДА на 31,9% ( $p < 0,01$ ), а количество ДК уменьшилось на 10,5% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем. Активность каталазы возросла на 22% ( $p < 0,01$ ), а показатель СОД увеличился на 64,2% ( $p < 0,001$ ) в сравнении с контрольной группой.

С учётом повышения активности тромбина по мере увеличения срока эксперимента, нами было изучено влияние на систему гемостаза ДНК – аптамера ингибитора тромбина – RE31. Данное соединение — представитель перспективных недавно синтезированных активных молекул — участков ДНК с определенной фармакологической активностью. Главная характеристика аптамеров связана с тем, что они эффективно и специфически могут

взаимодействовать со своими мишенями (Кульбачинский А.В., 2009; Копылов А.М., Спиридонова В.А., 2000). При изучении действия аптамера на свертывающую систему, было определено его ведущее действие на плазменное звено, вовлекающее впоследствии и клеточные звенья гемостаза. Аптамер на состояние оксидантно — антиоксидантной системы не повлиял. В группе применения дипиридамола возросло содержание тромбоцитов на 23,7% ( $p < 0,01$ ). Показатель времени свертывания увеличился на 27% ( $p < 0,01$ ) после аптамера и на 9,6% ( $p < 0,05$ ) — после дипиридамола по сравнению с контролем. Применяемый аптамер снижал гиперкоагуляционную направленность показателей системы гемостаза, блокируя неблагоприятные эффекты тромбина. Через блокирование тромбина, ингибируются реакции образования фибрина из фибриногена, активация фV, фVIII, фXIII, а также тромбиноиндуцированная агрегация тромбоцитов, которая происходит путем воздействия на PAR — рецепторы пластинок крови (Kahn M.L. et al., 1998; Ishiara H. et al., 1997; Vu T.K. et al., 1991).

Уровень маркеров активации системы гемостаза уменьшился в данных опытных группах. Содержание РФМК достоверно понизилось на 27,9% ( $p < 0,01$ ), а показатель D — димера был ниже на 30% ( $p < 0,05$ ) после применения аптамера .

Скорость лизиса фибринового сгустка возросла на 18,2% ( $p < 0,05$ ) в группе применения аптамера. Содержание фVIIIa уменьшилось после действия аптамера на 15,3 ( $p < 0,05$ ) в сравнении с контролем. Значительно понизилась активность ИТАП — 1 — на 28,7% ( $p < 0,01$ ) после применения аптамера, и — на 10,3% ( $p < 0,05$ ) на фоне дипиридамола. Содержание МСМа понизилось на 20,3% ( $p < 0,01$ ) после аптамера и — на 18,9% ( $p < 0,01$ ) после применения дипиридамола по сравнению с контрольной группой.

В результате применения указанных средств коррекции был подтвержден механизм последствий, формирующихся на фоне хронического воздействия ССГ и гемостазрегулирующая роль легких.



## Выводы

1. С увеличением времени воздействия сероводородсодержащего газа показатели ПОЛ и АОС существенно изменяются, что выражается в повышении содержания в тромбоцитах и в легочной ткани первичных и вторичных продуктов пероксидации (ДК, МДА), снижение активности антиоксидантных ферментов. Уровень процессов липопероксидации в тромбоцитах в целом менее интенсивен по сравнению с тканью легких в силу более высокой активности в них АОС.
2. Участие легких в регуляции гемокоагуляции находится в прямой зависимости от их детоксикационной функции. При хроническом воздействии сероводородсодержащего газа значительно возрастает концентрация продуктов дезадаптивного метаболизма в оттекающей крови, что обусловлено повреждением самих легких и совпадает по времени с началом прокоагулянтных изменений.
3. На ранних сроках ингаляции ССГ (первые два месяца эксперимента) наблюдается гипокоагуляция, обусловленная гипофункцией тромбоцитов, преобладанием активности фибринолиза и антикоагулянтов (ПС в артериальной и А-III – в венозной крови).
4. На поздних сроках ингаляции ССГ (третий и четвертый месяцы эксперимента) преобладает гиперкоагулемия, обусловленная гиперфункцией тромбоцитов, ростом коагуляционной напряженности плазмы (ускорение общего времени фибринообразования, увеличение фибринмономерных комплексов и D-димера), снижение активности фибринолиза (рост содержания ИАП-1) и формированием деструкции эндотелия (увеличение активности ф Виллибранда, содержания фVIII) и подавлением активности антикоагулянтов.
5. К концу ингаляционного периода воздействия ССГ в легких наблюдаются морфологические нарушения, проявляющиеся очаговой инфильтрацией тканей альвеолярными макрофагами и фибробластами. Утолщение межальвеолярных перегородок способствует преобладанию факторов свертывающей системы крови (фV, ТФ) и стимуляции фибринообразования.
6. Корреляционный анализ выявил сильную взаимосвязь между эндотоксикозом в артериальной и венозной крови, максимально нарастающим к концу 4-х

месячного воздействия сероводородсодержащего газа, с факторами свертывающей и противосвертывающей системы гемостаза и активностью процессов пероксидации.

7. Коррекция нарушений показателей коагуляционного и сосудисто-тромбоцитарного звеньев системы гемостаза при хроническом воздействии ССГ с использованием ДНК-аптамера ингибитора тромбина и дипиридамола приводит к уменьшению выраженности гиперкоагуляционных изменений в плазме.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

Определение показателей перекисного окисления липидов в тромбоцитах, активности антиоксидантной защиты, состояния сосудисто-тромбоцитарного гемостаза может быть использовано как дополнительный лабораторный тест для оценки тяжести течения. Динамический контроль за артерио-венозным различием по показателям токсемии (МСМ) дает возможность не только ранней диагностики, но и позволяет оценить патологические процессы непосредственно в легких.

На основе полученных данных дополнены знания в областях нормальной физиологии и относительно механизма реактивности и регуляции защитно-приспособительных систем крови (антиоксидантной, гемостатической и фибринолитической) в норме. Полученные результаты могут быть использованы в экспериментальном моделировании различных патологических процессов с учетом как особенностей протекания реакций перекисного окисления липидов, антиоксидантной системы, гемостаза и фибринолиза в крови и в отдельных органах и тканях. Сопряжённая функциональная динамичность внутрисистемных реакций при этом открывает возможности решения проблемы коррекции тромботической готовности крови.

Разработан физиологический принцип эффективных коррекционных мероприятий, направленных на восстановление гемостатических нарушений.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Абатуров, А.Е. Активированные азотсодержащие метаболиты организма человека при заболеваниях органов дыхания. Генераторы и генерация (часть 2-я) / А.Е. Абатуров, А.П. Волосовец, Т.П. Борисова // Теоретична медицина / Theoretical Medicine. – 2015. – Т.67, №7. – С. 127-131.
2. Агаджанян, Н.А. Стресс, физиологические и экологические аспекты адаптации, пути коррекции / Н.А. Агаджанян, С.В. Нотова. – Оренбург, 2009. – 274 с.
3. Аксенова, И.З. Низкоинтенсивная лазерная терапия в коррекции дисфункции тромбоцитов при хронической обструктивной болезни легких / И.З. Аксенова, Н.М. Бурдули, А.С. Крифариди // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. – 2015. – Т.219, №22. – С. 39-43.
4. Альфонсов, В.В. Влияние различных сдвигов рН на свертывание крови, фибринолиз и агрегацию тромбоцитов в опытах *in vitro* / В.В. Альфонсов, Е.В. Альфонсова, Л.А. Забродина // Ученые записки Забайкальского государственного гуманитарно-педагогического университета им. Н.Г. Чернышевского. – 2010. – Т.30, №1. – С. 5-12.
5. Альфонсова, Е.В. Изменение некоторых показателей системы гемостаза при лактат-ацидозе / Е.В. Альфонсова // Фундаментальные исследования. – 2013. – №5-2. – С. 240-244.
6. Амонова, Ш.Ш. Гипокоагулирующая функция лёгких у женщин, перенесших тяжелой формы гестозов во время беременности и после родов, и её коррекция: автореф. дис... канд.мед.наук: 14.00.37; 14.00.01/ Ш.Ш. Амонова. Душанбе, 2002.- 22с.
7. Амонова, Ш.Ш. Некоторые показатели тромбоэластограммы в венозной кубитальной, смешанной венозной и артериальной крови у беременных с пре- и эклампсией / Ш.Ш. Амонова, Н.Г. Рахимов, Г.К. Давлятова [и др.] // Вестник Академии медицинских наук Таджикистана. – 2016. – № 2. – С. 45-53.
8. Амонова, Ш.Ш. Состояние гемостаза в различных бассейнах сосудистого русла у беременных с умеренной преэклампсией / Ш.Ш. Амонова, Г.К. Давлятова, А.М.

Мурадов [и др.] // Материалы VI съезда акушеров и гинекологов Республики Таджикистан. – Душанбе, 2017. – С. 19-22.

9. Атауллаханов, Ф.И. Физическая биохимия крови: от описания к пониманию / Ф.И. Атауллаханов, А.А. Бутылин, В.М. Витвицкий [и др.] // Гематология и трансфузиология. – 2008. – Т.53, №5. – С. 42-49.

10. Афанасьев, Б.В. Гематология: рук. для вр. // Б.В. Афанасьев, О.Я. Волкова, А.А. Ганапиев [и др.] // – СПб.: (2-е издание, дополненное и исправленное), 2011. – 615с.

11. Ахминеева, А.Х. Патогенетические особенности дисфункции эндотелия при респираторно-кардиальной коморбидности // А.Х. Ахминеева, О.С. Полунина, И.В. Севостьянова, Л.П. Воронина // Кубанский научный медицинский вестник. – 2014. – Т.146, №4. – С. 11-15.

12. Багдатыев, В.Е. Нарушения фибринолитической функции легких при респираторном дистресс-синдроме у больных перитонитом / В.Е. Багдатыев, В.А. Гологорский, Б.Р. Гельфанд [и др.] // Анестезиология и реаниматология. – 1991. – № 5. – С.9-12.

13. Байбурина, Г.А. Роль путей клеточной сигнализации в развитии последствий окислительного стресса / Г.А. Байбурина // Медицинский вестник Башкортостана. – 2016. – № 2. – С. 82-91.

14. Барабаш, Р.А. Морфологическая характеристика клеточно-тканевых реакций при туберкулёзной инфекции, вызванной лекарственно-устойчивыми штаммами [Электронный ресурс] / Р. А. Барабаш, Макаров И.Ю. ; Амур. гос. мед. акад., г. Благовещенск // Бюл. физиологии и патологии дыхания. – 2018. - Вып. 67. – Ст. 15.

15. Батайкина, В.В. Роль легких в регуляции гемостаза при нормальном и осложненном течении беременности : автореферат дис. ... кандидата медицинских наук : Москва, 2000. - 15 с.

16. Баркаган, З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза / З.С. Баркаган, А.П. Момот. – М.: Ньюдиамед, 2008. – 292 с.

17. Бгане, Н.М. Динамика маркеров гемостаза в условиях гемодиализации у детей при тяжелом сепсисе / Н.М. Бгане, А.В. Трёмбач // Кубанский научный медицинский вестник. – 2012. – Т. 135, №6. – С. 37 – 41.
18. Белоусова, О.И. Радиация и система крови / О.И. Белоусова, П.Д. Горизонтов, М.И. Федотова — М.: Атомиздат, 1979. — 126 с.
19. Белькова, Т.Ю. Патогенетические аспекты развития эндотоксикоза при острых экзогенных отравлениях / Т.Ю. Белькова // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2012. – Т.113, №6. – С. 8-11.
20. Богородский, А.Ю. Модель прогноза исхода заболевания у пациентов с тромбоэмболией мелких ветвей легочной артерии в отделении реанимации и интенсивной терапии / А.Ю. Богородский, Д.В. Садчиков // Тромбоз, гемостаз, реология. – 2016. – № 4 (68). – С. 31-37.
21. Богородский, А.Ю. Особенности гемодинамики и газообмена у пациентов с тромбоэмболией мелких ветвей легочной артерии / А.Ю. Богородский, В.В. Рубан, А.В. Кулигин // Кардиология: новости, мнения, обучение. – 2018. – Т.6, №2(17). – С. 73-78.
22. Бойко, В.И. Гигиена труда и состояние здоровья рабочих, занятых переработкой природного газа / В.И. Бойко, Ю.И. Доценко, А.Х. Ахминеева, О.В. Бойко // Гигиена и санитария. – 2017. – Т.96, №6. – С. 541-548.
23. Боков, Д.А. Экспериментальное моделирование токсикогенной патологии эмбриогенеза: экологические аспекты / Д.А. Боков, П.С. Неверова, М.П. Обидченко [и др.] // Вестник оренбургского государственного университета. – 2015. – Т.185, №10. – С. 203-207.
24. Большаков, В.В. Анализ ущерба для здоровья населения промышленного центра от загрязнения атмосферного воздуха / В.В. Большаков, Р.А. Голиков, Д.В. Суржиков и др. // Безопасность жизнедеятельности. – 2014. – №4. – С. 9-13.
25. Буланова, Е.Л. Нарушения гемостаза у больных с поражениями / Е.Л. Буланова // Досягнення біології та медицини. – Т.19, №1. – 2012. – С. 70-75.
26. Буланова, К.Я. Роль активных форм кислорода в изменении функциональной активности тромбоцитов беременных женщин с гестозами / К.Я.

Буланова, В.Н. Сидоренко, Л.М. Лобанок [и др.] // Мед. журн. – 2009. – Т.28, №2. – С. 25–29.

**27.** Бышевский, А.Ш. Коагуляционная активность надмолекулярных частиц, циркулирующих в кровотоке, свёртываемость артериальной и венозной крови, интенсивность липидпероксидации и толерантность к тромбину / А.Ш. Бышевский, Б.И. Кузник, Ю.А. Витковский [ др. ] // Гемостаз, тромбоз и реология. – 2007. – № 4. – С. 33-38.

**28.** Бышевский, А.Ш. О возможной роли ингибитора самосборки фибрина в регуляции свёртывания крови / А.Ш. Бышевский, Е.А. Чирятьев, М.К. Умутбаева // Гематол. и трансфузиол. – 1985. – Т.30, №1. - С. 35-38.

**29.** Вагнер, Ю.Н. Нарушения в системе протеина С и высокая активность фактора Виллебранда (ФВ) при беременности / Ю.Н. Вагнер, Л.А. Скворцова // Акушерство и гинекология Санкт-Петербурга. – 2018. – №2. – С. 6-6а.

**30.** Васина, Л.В. Функциональная гетерогенность эндотелия (обзор) / Л.В. Васина, Т.Д. Власов, Н.Н. Петрищев // Артериальная гипертензия. – 2017. – Т.23, №2. – С. 88-102.

**31.** Вериги, Я.И. Фактор Виллебранда и его роль в дисфункции эндотелия при ишемической болезни сердца / Я.И. Вериги, И.В. Демко, М.М. Петрова [ др. ] // Сибирское медицинское обозрение. – 2014. – Т.89, №5. – С. 23-28.

**32.** Владимиров, Ю.А. Дизрегуляция проницаемости мембран митохондрий, некроз и апоптоз / Ю.А. Владимиров // Дизрегуляционная патология / под ред. Г. Н. Крыжановского. – М.: Медицина, 2002. – С. 137-153.

**33.** Владимиров, Ю.А. Роль нарушения свойств липидного слоя мембран в развитии патологических процессов / Ю.А. Владимиров // Патол. физиол. и эксперим. терапия. – 1989. – №4. – С. 7-18.

**34.** Власов, А.П. Метаболические перестройки в печени при эндогенной интоксикации / А.П. Власов, О.В. Камкина, В.А. Трофимов [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2017. – Т.163, №3. – С. 294-297.

- 35.** Воробьев, А.В. Вопросы патогенеза синдрома Труссо / А.В. Воробьев, А.М. Чабров, А.А. Савченко, С.В. Булгакова, А.Д. Макария // *Акушерство, гинекология и репродукция.* – 2015. – №2. – С. 99-109.
- 36.** Гаврилов, О.К. Теория регуляции агрегатного состояния крови / О.К. Гаврилов // *Терапевтический архив.* – 1982. – №8. – С.133-138.
- 37.** Галстян, Г.М. Применение концентратов протромбинового комплекса по утвержденным и неутвержденным показаниям: новые перспективы старых препаратов / Г.М. Галстян // *Гематология и трансфузиология.* – 2018. – Т.63, №1. – С. 78-91.
- 38.** Гераскина, Л.А. Эндотелиальная функция и эластические свойства сосудистой стенки при гипертонических ишемических цереброваскулярных заболеваниях / Л.А. Гераскина, А.В. Фонякин, З.А. Суслина // *Клиническая неврология.* – 2009. – Т.3, № 2. – С. 4-8.
- 39.** Гильмутдинова, Ф.Г. Биомониторинг микроэлементного статуса у детей с сердечно-сосудистой патологией в условиях антропогенной нагрузки / Ф.Г. Гильмутдинова, А.Л. Сушков, Н.П. Сетко, Р.Я. Татаринцева // *Вестник последиplomного медицинского образования.* – 2017. – №2. – С. 48-52.
- 40.** Гильцер, И.В. Анализ параметров теста генерации тромбина у пациентов, принимающих ривароксабан / И.В. Гильцер, О.А. Смирнова, О.Ю. Матвиенко [и др.] // *Вестник гематологии.* – 2018. – Т.4, №1. – С. 40-41.
- 41.** Гичев, Ю.П. Загрязнение окружающей среды и экологическая обусловленность патологии человека: аналитический обзор / Ю. П. Гичев. – ГПНТБ СО РАН – Новосибирск, 2003. – 138 с.
- 42.** Гологорский, В.А. Изменение метаболической функции легких и содержание биологически активных веществ в крови больных с респираторным дистресс синдромом / В.А. Гологорский, В.Е. Багдатов, Б.Р. Гельфанд [и др.] // *Анестезиология и реаниматология.* – 1992. – №1. – С. 20-22.
- 43.** Голубкина, Е.В. Роль легких в поддержании баланса системы гемостаза на фоне хронического воздействия воздушных поллютантов / Голубкина Е.В.,

Дюкарева О.С., Тризно Н.Н. [и др.] // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2018. – №70. – С. 49-54.

**44.** Гончарова, В.А. Значение исследования катехоламинов, ацетилхолина и гистамина крови при неспецифических заболеваниях легких / В.А. Гончарова, Е.К. Доценко, А.И. Абрамова // Тер. архив. – 1980. – №3. – С. 29-32.

**45.** Горева, О.Б. Генетический полиморфизм ферментов метаболизма ксенобиотиков и транспортных белков: роль в формировании устойчивости к химиотерапии у больных хроническими лимфопролиферативными заболеваниями / О.Б. Горева, Е.А. Горбаченко, А.Ю. Гришанова // Вестник гематологии. – 2017. – Т.13, № 2. – С. 49-50.

**46.** Горст, Н.А. Калликреин-кининовая система и некоторые функции легких при экспериментальной стафилококковой пневмонии и интоксикации: автореф. дис... канд.мед.наук: 14.00.16 / Горст Нина Александровна. – Казань, 1983.- 20с.

**47.** Грузман, А.Б. РДСВ при эклампсии и эклампсической коме. Вопросы диагностики / А.Б. Грузман, И.Г. Ашихмина, В.О. Нефедова, В.В. Давыдов // Ак. и гине-кол. – 1991. – №2. – С. 28-34.

**48.** Данковцева, Е.Н. Лабораторный контроль эффективности и безопасности антикоагулянтов / Е.Н. Данковцева, И.В. Зотова, Д.А. Затейщиков // Кардиология. – 2014. – Т.54, №5. – С. 88-96.

**49.** Дворянкова, Е.В. Антикоагулянты в дерматологической практике / Е.В. Дворянкова, А.Л. Пирузян [и др.] // Эффективная фармакотерапия. – 2018. – №21. – С. 24-29.

**50.** Де Сильва, Н.М. Маркеры дисфункции эндотелия у больных бронхиальной астмой / Н.М. Де Сильва, В.И. Немцов, В.И. Трофимов // Российский аллергологический журнал. – 2015. – №2. – С. 15-18.

**51.** Джатдоева, А.А. Митохондрии как источники супероксидного анион-радикала в тромбоцитах / А.А. Джатдоева, Е.В. Проскурнина, А.М. Нестерова [и др.] // Биологические мембраны: Журнал мембранной и клеточной биологии. – 2017. – Т. 34, №6. – С. 116-123.



52. Дисфункция эндотелия. Патогенетическое значение и методы коррекции / под ред. Н. Н. Петрищева. – СПб.: ИИЦ ВМА, 2007. - 296с.
53. Добровольский, А.Б. Образование тромбоза и его функции в системе гемостаза / А.Б. Добровольский, Е.В. Титаева // Атеротромбоз. – 2013. – № 1. – С. 66-72.
54. Домашенко, М.А. Состояние функции эндотелия при ишемических нарушениях мозгового кровообращения / М.А. Домашенко, С.В. Орлов, М.В. Костырева // Неврологический журнал. - 2007. - №6. - с.10-11
55. Дорохов, Н.А. Особенности реакции системы коагуляционного звена гемостаза у детей с пневмониями / Н.А. Дорохов, Е.В. Скударнов, Д.А. Антропов // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2016. – Т.107, №1. – С. 12-15.
56. Дубилей, П.В. Барьерная функция легких и обеспечение гомеостаза / П.В. Дубилей, З.В. Уразаева, Х.С. Хамитов // – Казань: Из-во Казанского ун-та, 1987. – 192 с.
57. Дьякова, М.Е. Ферменты пуринового метаболизма в иммунопатогенезе фиброзно-кавернозного туберкулеза легких / М.Е. Дьякова, В.Ю. Журавлев, Д.С. Эсмедляева, Т.Л. Перова // Медицинская иммунология. – 2016. – Т. 18, № 1. – С. 85-90.
58. Егорова, В.В. Изучение многофункциональной системы протеина с как маркера тяжести течения хирургической инфекции и нарушения гомеостаза при синдроме системной воспалительной реакции и сепсисе / В.В. Егорова, М.И. Титова, А.А. Звягин, В.С. Демидова, Н.Г. Аскеров // Медицинский алфавит. – 2015. – Т. 4, № 18. – С. 63-66.
59. Ермолаева, Е.Н. Свободнорадикальное окисление в интактных и активированных тромбоцитах / Е.Н. Ермолаева, Л.В. Кривохижина, С.А. Кантюков, Е.Ф. Сурина-Марышева // Фундаментальные исследования. – 2014. – №7. – С. 61-65;
60. Заболотских, И.Б. Артерио-венозная разница параметров гемостаза у реанимационных больных с различными типами энергодифицита /

- И.Б. Заболотских, С.В. Синьков, Д.С. Величко, А.А. Федоренко // *Общая реаниматология*. – 2013. – Т.9, №4. – С. 23-29.
- 61.** Заболотских, И.Б. Прогностическое значение трудов внутричерепного давления в условиях постоянной венозной гемофильтрации у больных с тяжелым сепсисом и внутричерепной гипертензией / И.Б. Заболотских, Т.С. Мусаева, А.П. Бердников // *Инфекции в хирургии*. – 2014. – Т.12, № 4. – С. 12-15.
- 62.** Замай, Г.С. Разработка технологии идентификации биомаркеров с помощью аптамеров на примере плоскоклеточного рака легкого и аденокарциномы / Г.С. Замай, О.С. Коловская, Ю.Е. Глазырин [и др.] // *Сибирское медицинское обозрение*. – 2012. – №6. – С. 9-13.
- 63.** Зеленко, А.В. Генетические маркеры в определении риска развития неинфекционных заболеваний у работников вредных производств / А.В. Зеленко, О.К. Синякова, Е.А. Семушина, Е.С. Щербинская // *Медицинский журнал*. – 2017. – № 4 (62). – С. 139-142.
- 64.** Зеулина, Е.Е. Негазообменные функции легких в генезе тяжелой распространенной вирусно-бактериальной пневмонии / Е.Е. Зеулина, Д.В. Садчиков, Е.О. Блохина // *Саратовский научно-медицинский журнал*. – 2012. – Т.8, №3. – С. 738-744.
- 65.** Зильбер, А.П. Этюды критической медицины / А.П.Зильбер. – М.: МЕДпресс информ, 2006. – 568 с.
- 66.** Зубаиров, Д. М. Что такое гиперкоагулемия и каков ее механизм? / Д. М. Зубаиров, // *Тромбы, кровоточивость и болезни сосудов*. – 2008. – №7. – С. 16-30.
- 67.** Зубаиров, Д.А. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования / Д.А. Зубаиров. – Казань: ФЕН, 2000. – 368с.
- 68.** Зубаиров, Д.М. Микровезикулы крови, функция и их роль в тромбообразовании / Д.М. Зубаиров, Л.Д. Зубаирова. – М.: Геотар-Медиа. – 2009. – 168 с.
- 69.** Зубаиров, Д.М. Эндотелиальные микровезикулы посредники межклеточных взаимодействий в сосудистом секторе / Д.М. Зубаиров, Л.Д. Зубаирова // *Тромбоз, гемостаз и реология*. - 2011. – Т.46, №2. – С. 6-13.

70. Зырянов, С.К. Эноксапарин - низкомолекулярный гепарин со сложной химической структурой и разнообразными неантикоагулянтными свойствами / С.К. Зырянов, Е.А. Ушкалова // Терапевтический архив. – 2016. – Т.88, №12. – С. 109-115.
71. Игнатова, Г.Л. Выявление хронических неспецифических заболеваний легких при амбулаторном обследовании лиц молодого возраста в условиях крупного промышленного города / Г.Л. Игнатова, И.А. Захарова // Лечебное дело. – 2014. – №2. – С. 8-12.
72. Измеров Н.Ф. Концепция долгосрочного социально-экономического развития Российской федерации на период до 2020г. (стратегия 2020) и сохранение здоровья работающего населения России / Н.Ф. Измеров // Медицина труда и пром. экология. – 2012. – № 3. – С. 1-8.
73. Измеров Н.Ф. Сохранение и укрепление здоровья работающих как основа социальной политики и модернизации экономики России / Н.Ф. Измеров // Связь заболеваний с профессией с позиций доказательной медицины: материалы Всероссийской науч.-практич. конференции с международным участием. – Казань, 2011. – С.21-24.
74. Изтлеуов, М.К. Нереспираторная функция легких у рабочих хромового производства / М.К. Изтлеуов, Е.М. Изтлеуов // Клиническая медицина Казахстана. – 2013. – Т.28, №2. – С.- 20.
75. Казаков, А.С. Ривароксабан - риск развития нежелательных реакций взаимодействия / А.С. Казаков, А.В. Астахова, В.К. Лепяхин // Российский медицинский журнал. – 2014. – Т.20, №2. – С. 31-36.
76. Калиматова, Д.М. Современные представления о роли маркеров функции эндотелия в развитии патологии при острых респираторных заболеваниях / Д.М. Калиматова, Е.П. Шутанова // Акушерство. Гинекология. Эндокринология. – 2015. – Т.86, №1. – С. 21-25.
77. Камилов, Ф.Х. Выбор растворителя для изучения влияния водонерастворимых веществ на коагуляционный компонент гемостаза в условиях *in vitro* на доклиническом этапе) / Ф.Х. Камилов, Г.А. Тимирханова, А.И.

Самородова [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2014. – №6. – С. 11-14.

**78.** Каминская, О.Г. Особенности метаболической активности сосудистого эндотелия у больных туберкулезом легких / О.Г. Каминская, Р.Ю. Абдуллаев, О.Г. Комиссарова // Вестник РАМН. Актуальные вопросы фтизиатрии. – 2012. – №11. – С. 29-33.

**79.** Канева, В.Н. Тромбоцитарные интегрини АІІВВЗ / В.Н. Канева, А.А. Мартьянов, Д.С. Морозова [и др.] // Биологические мембраны: Журнал мембранной и клеточной биологии. – 2019. – Т.36, №1. – С. 15-31.

**80.** Кароли, Н.А. Коморбидность у больных хронической обструктивной болезнью легких: место кардиоваскулярной патологии / Н.А. Кароли, А.П. Ребров // Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии. – 2009. – Т.5, №4. – С. 9-16.

**81.** Карпич, С.А. Генерация тромбина у пациентов с наследственной тромбофилией, получающих антикоагулянтную терапию / С.А. Карпич, В.М. Шмелева, О.Г. Головина [и др.] // Medline.ru. Российский медицинский журнал. – 2017. – Т.18, №2. – С. 551-560.

**82.** Киричук, В.Ф. Вазомоторная функция эндотелия у лиц: связь с типами характера / В.Ф. Киричук, Е.С. Оленко, И.А. Кодочигова [и др.] // Физиология человека. – 2015. – Т.41, №3. – С. 106-111.

**83.** Клычникова, Е.В. Система гемостаза в норме и при трансплантации печени (обзор) / Е.В. Клычникова, В.Е. Сюткин, Т.М. Решетняк // Общая реаниматология. – 2018. – Т.14, №5. – С. 58-84.

**84.** Копылов, А.М. Комбинаторная химия нуклеиновых кислот: SELEX / А.М. Копылов, В.А. Спиридонова // Молекулярная биология. – 2000. – №34. – С. 1097-1113.

**85.** Корж, Е.В. Роль системы гемостаза в формировании деструкции при туберкулезе легких / Е.В. Корж, Л.Н. Родимова, Е.В. Дмитриенко [и др.] // Український пульмонологічний журнал. – 2006. – №2. – С.70–72.

- 86.** Корсакова, Н.Е. Оценка состояния системы гемостаза при эндотелиальной дисфункции // Н.Е. Корсакова, О.А. Смирнова, Н.Н. Силина [и др.] // Вестник гематологии. – 2017. – Т.13, №3. – С. 43-44.
- 87.** Котова, Я.Н. Влияние ингибиторов цистеиновых протеиназ на тромбоцитарное и плазменное звенья системы свертывания крови / Я.Н. Котова, Е.А. Костанова, М.А. Розенфельд [и др.] // Биологические мембраны: Журнал мембранной и клеточной биологии. – 2009. – Т.26, №6. – С. 514-520.
- 88.** Котюжинская, С.Г. Патогенетические особенности эндотелиальной дисфункции при нарушении системы гемостаза / С.Г. Котюжинская, Д.А. Уманский, Ю.В. Погулич, А.Н. Лиходед // Актуальні проблеми сучасної медицини: вісник української медичної стоматологічної академії. – 2018. – Т.18, № 3(63). – С. 320-323
- 89.** Кубышкин, А.В. Травма, гемостаз и синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания: патогенетические механизмы нарушений гемокоагуляции / А.В. Кубышкин, Н.Ю. Пылаева, И.И. Фомочкина, А.А. Писарев // Клиническая патофизиология. – 2016. – Т.22, №4. – С. 104-117.
- 90.** Кузнецова, В.Л. Сравнительная оценка биохимических показателей сыворотки крови после хронического и субхронического воздействия синглетного кислорода / В.Л. Кузнецова, А.Г. Соловьева, С.П. Перетягин // Современные проблемы науки и образования. – 2018. – №4. – С. 142.
- 91.** Кузнецова, В.Л. Оксид азота: свойства, биологическая роль, механизмы действия / В.Л. Кузнецова, А.Г. Соловьева // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – №4. – С. 45-47.
- 92.** Кузник, Б.И. Аутоиммунные механизмы регуляции системы гемостаза / Б.И. Кузник, Н.Н. Цыбиков // Сибирский онкологический журнал. – 2005. – Т.13, №1. – С. 88-95.
- 93.** Кузник, Б.И. Белки теплового шока, атеросклероз, ДВС-синдром и тромбоз / Б.И. Кузник, Н.Н. Цыбиков // Проблемы клинической медицины. 2009. - №1. - С. 110-118.

94. Кузник, Б.И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии / Б.И. Кузник, // Сибирский медицинский журнал. 2011. – Т.106, №7. – С. 145.
95. Кузник, Б.И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии / Б.И. Кузник. – Чита: Изд. Экспресс-издательство, 2010. – 832 с.
96. Кузник, Б.И. Общая гематология. Гематология детского возраста / Б.И. Кузник, О.Г. Максимова. - М.: Ростов н/Д., 2007. – 575 с.
97. Кульбачинский, А.В. Механизмы инициации транскрипции у мезофильных и термофильных бактерий: автореф. дис... д-ра. биол. наук: 03.00.03/ А.В. Кульбачинский. Москва, 2009. – 51с.
98. Кутафина, Н.В. Механизмы функционирования сосудисто-тромбоцитарного гемостаза / Н.В. Кутафина, С.Ю. Завалишина // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности. – 2012. – №1. – С. 30-37.
99. Лазько, А.Е. Влияние газообразных серосодержащих поллютантов на систему микроциркуляции / А.Е. Лазько, А.П. Ярошинская // Материалы конференции. Издательский дом "Астраханский университет". - Астрахань. - 2008. – С. 24-29.
100. Лиханос, О.В. Особенности регуляторных механизмов тромбоцитарного гемостаза при хронической обструктивной болезни легких : автореф. ... канд. мед. наук: 14.01.04 / Лиханос Ольга Викторовна – Ставрополь, 2011. – 22с.
101. Логинов П.В., Николаев А.А. Сравнительный анализ воздействия микроволнового излучения и сероводородсодержащего газа на состояние репродуктивной системы // Фундаментальные Исследования. – 2013. – №10-14. – С. 3106-3110.
102. Лойко, Е.Н. Влияние  $H_2O_2$  на АДФ-индуцированную агрегацию и  $Ca^{2+}$ -ответ тромбоцитов и дезагрегация тромбоцитов / Е.Н. Лойко, А.Б. Самаль // Весці НАН Беларусі. Сер. мед.-біял. навук. – 2003. – №4. – С. 80-83.

- 103.** Лойко, Е.Н. Влияние  $H_2O_2$  на внутриклеточную концентрацию ионов кальция тромбоцитов / Е.Н.Лойко, А.Б.Самаль // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем: м-лы 5-го съезда Белор. обществ. объединения фотобиологов и биофизиков, 22-24 октября 2002 г., Минск / Ин-т фотобиологии НАН Беларуси. – Минск, 2002. – С. 77.
- 104.** Локтионова, И.Л. Состояние функции сосудистого эндотелия при инфекционной патологии различной этиологии / И.Л. Локтионова, М.В. Покровский, В.А. Рагулина [и др.] // Научные ведомости БелГУ. Сер. Медицина. Фармация. – 2012. – Т.123 (вып.17/1), №4. – С. 20-31.
- 105.** Лоскутова, Е.В. Роль дестабилизации процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в патогенезе гипоксии у недоношенных новорождённых / Е.В. Лоскутова, И.А. Воронцова, Х.М. Вахитов, Т.Р. Сафиуллин // Казанский медицинский журнал. – 2017. – Т.98, №5. – С. 803-808.
- 106.** Лукашин, Б.П. Гепарин и гепариноиды: источники получения, структура и биологические эффекты / Б.П. Лукашин, А.Н. Гребенюк, В.В. Зацепин // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2007. – №4(20). – С. 141-147.
- 107.** Лукина, С.А. Метаболические функции легких при дисфункции стриатума и черной субстанции мозга / С.А. Лукина, М.Р. Тимофеева, О.М. Канунникова // Ульяновский медико-биологический журнал. – 2016. – №4. – С. 129-135.
- 108.** Лысенков, С.П. Нейрогормональные механизмы регуляции водно-солевого обмена в легких / С.П. Лысенков, Л.З. Тель, А.П. Галенко-Ярошевский // Бюлл. экспер. биол. – 2001. – Прил. 2. – С. 81-84.
- 109.** Лысенков, С.П. Роль физиологической системы легкие-плацента в обеспечении гормонального и коагуляционного гомеостаза при беременности / С.П. Лысенков, В.В. Мясникова, В.В. Пономарев // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2002. – Прил. 3. – С. 14-18.
- 110.** Мажитова, М.В. Хроническое влияние природного газа астраханского месторождения на антиоксидантную активность и redox- потенциал плазмы крови

и ткани мозга в эксперименте / М.В. Мажитова, Д.Л. Теплый, Н.Н. Тризно [ и др. ] // Естественные и технические науки. – 2011. – Т.56, №6. – С. 149-153.

**111.** Мазуров, А.В. Аптамеры – новые фармакологические субстанции для антикоагулянтов/ А.В. Мазуров, В.А. Спиридонова // Атеротромбоз. – 2017. – №1. – С. 134-144.

**112.** Мазуров, А.В. Свойства нового ДНК аптамера — прямого ингибитора тромбина / А.В. Мазуров, Е.В. Титаева, С.Г. Хаспекова [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологической медицины. – 2010. – Т.150, №10. – С. 394-397

**113.** Макацария, А.Д. Злокачественные новообразования, тромбофилия, тромбозы / А.Д. Макацария, А.В. Воробьев, В.О. Бицадзе. – М.: Триада – X, 2008. – 650 с.

**114.** Максименко, А.В. Конформационные эффекты молекулярного докинга 3d модели бычьей тестикулярной гиалуронидазы с хондроитинсульфатным и гепариновым лигандами / А.В. Максименко, Р.Ш. Бибилашвили // Кардиологический вестник. – 2016. – Т.11, №4. – С. 70-75.

**115.** Макурина, О.Н. Гемокоагуляционные механизмы / О.Н. Макурина // Успехи современного естествознания. – 2015. – №5. – С. 76-79.

**116.** Макурина, О.Н. Сосудистый гемостаз у взрослых крыс самцов / О.Н. Макурина // Вестник РУДН, Серия Экология И Безопасность Жизнедеятельности. – 2015. – №1. – С.45-48.

**117.** Мамаева, М.Г. Маркеры системного воспаления и эндотелиальной дисфункции у больных хронической обструктивной болезнью легких / М.Г. Мамаева, И.В. Демко, Я.И. Вериги [и др.] // Сибирское медицинское образование. – 2014. – №1. – С. 12-19.

**118.** Мартьянов, А.А. Физиологические и патофизиологические аспекты активации тромбоцитов крови через рецептор  $\alpha$ сес-2 / А.А. Мартьянов, В.Н. Канева, М.А. Пантелеев, А.Н. Свешникова // Онкогематология. – 2018. – Т.13, №3. – С. 83-90.



- 119.** Матвиенко, О.Ю. Нарушения в системе протеина с у детей с генерализованными инфекциями / О.Ю. Матвиенко, А.А. Вильниц, О.А. Смирнова [и др.] // Вестник гематологии. – 2018. – Т.14, №4. – С. 39-40.
- 120.** Медведев, И.Н. Методические подходы к оценке агрегации и поверхностных свойств тромбоцитов и эритроцитов / И.Н. Медведев, С.Ю. Завалишина, Е.Г. Краснова, Н.В. Кутафина // Фундаментальные исследования. – 2014. – №10 (1). – С. 117-120.
- 121.** Медвинский, И.Д. Концепция развития полиорганной недостаточности на модели гестоза / И.Д. Медвинский, Б.Д. Зислин, Л.Н. Юрченко // Анест. и реаниматол. – 2000. – №3. – С. 48-52.
- 122.** Мищенко, В.П. Влияние физических факторов на гемостаз / В.П. Мищенко, С.В. Мищенко. – Полтава: АСМИ, 2003. – 132с.
- 123.** Могиленкова, Л.А. Роль генетического полиморфизма и различия в детоксикации химических веществ в организме человека / Л.А. Могиленкова, В.Р. Рембовский // Гигиена и санитария. – 2016. – Т.95, №3. – С. 255-262.
- 124.** Моисеев, С.В. Практические аспекты применения новых пероральных антикоагулянтов для профилактики ишемического инсульта у пациентов с фибрилляцией предсердий / С.В. Моисеев // Клиническая фармакология и терапия. – 2018. – Т. 27, № 4. – С. 5-11.
- 125.** Мороз, Е.В. Желудочно-кишечные кровотечения при использовании новых пероральных антикоагулянтов: эпидемиология, факторы риска, лечение и профилактика / Е.В. Мороз, А.Е. Каратеев, Е.В. Крюков, В.А. Чернецов // Научно-практическая ревматология. – 2017. – Т.55, №6. – С. 675-684.
- 126.** Морозов, Ю.А. Нарушения системы гемостаза при патологии печени и их диагностика / Ю.В. Морозов, Р.В. Медников, М.А. Чарная // Гемиррагические диатезы, тромбозы, тромбофилии. – 2014. – №1. – С. 162-174.
- 127.** Москалева, Е.Ю. Возможные механизмы адаптации клетки к повреждениям, индуцирующим программированную гибель. Связь с патологией / Е.Ю. Москалева, С.Е. Северин // Патол. Физиология и эксперим. Терапия. – 2006. – №2. – С. 2-16.

- 128.** Мурадов, А.М. Сравнительный анализ функций легких по регуляции реологии у больных с различной патологией при критических состояниях / А.М. Мурадов, А.А. Мурадов, Ш.Ш. Амонова [ и др.] // *Здравоохранение Таджикистана*. – 2015. – № 4. – С.42-52.
- 129.** Мурадов, А.М. Синдром нарушений нереспираторных функций легких / А.М. Мурадов – Д.: Suman., 2000. – 285с.
- 130.** Мусатов О.В. Динамика индикаторных ферментов сыворотки крови в зависимости от видов операций при разрыве почки в эксперименте / О.В. Мусатов, С.А. Зурнаджан, А.В. Коханов // *Экспериментальная и клиническая урология*. – 2014. – № 1. – С. 16-19.
- 131.** Мчедлишвили, Г.И. Микроциркуляция крови: Общие закономерности регулирования и нарушений / Г.И. Мчедлишвили. – Л.: Наука, 1989. – 296с.
- 132.** Нестеров, Ю.В.. Метаболические функции и стресс-реактивность легких на разных этапах постнатального онтогенеза: автореф. дис... д-ра. биол. наук: 03.00.13 / Нестеров Юрий Викторович. – Астрахань, 2003. – 40с.
- 133.** Никонов, В.В. Некоторые вопросы патологии гемостаза и двс-синдрома / В.В. Никонов, А.С. Соколов, С.В. Курсов, Е.И. Киношенко // *Медицина неотлож-ных состояний*. – 2019. – Т.96, №1. – С. 22-33.
- 134.** Новиков, Н.Ю. Патоморфологические изменения аэрогематического барьера при остром респираторном дистресс-синдроме в эксперименте // Н.Ю. Новиков, Л.В. Тышкевич, К.Н. Джансыз // *Патология*. – 2012. – №1(24). – С. 053-056.
- 135.** Нургалеева, Е.А. Показатели прооксидантно-антиоксидантного статуса печени крыс при формировании эндотоксикоза постренимационного периода / Е.А. Нургалеева, Д.А. Еникеев, Л.В. Нагаева [и др.] // *Астраханский медицинский журнал*. – 2011. – Т.6, №2. – С. 230-232.
- 136.** Панова, И.Г. Ингибирующее действие триблок-сополимеров полиэтиленокси-да и полипропиленоксида на агрегацию и слияние атерогенных липопротеидов низкой плотности / И.Г. Панова, В.В. Спиридонов, И.Б. Каплан [и др.] // *Биохимия*. – 2015. – Т.80, №8. – С. 1272-1281.

- 137.** Пантелеев, М.А. Свертывание крови: биохимические основы / М.А. Пантелеев, Ф.И. Атауллаханов // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. – 2008. – Т.1, №1. – С. 50-62.
- 138.** Панченко, Е.П. Тромбозы в кардиологии. Механизмы развития и возможности терапии / Е.П. Панченко, А.Б. Добровольский. – М.: Спорт и культура, 1999. – 462с.
- 139.** Папаян, Л.П. Синдром удлинённого аптв – лабораторная характеристика приобретенных ингибиторов факторов свертывания крови XII, XI, IX, VIII: клиническое наблюдение и обзор литературы / Л.П. Папаян, В.А. Кобилянская, О.А. Смирнова [и др.] // Вестник гематологии. – 2015. – Т.11, №1. – С. 52-58.
- 140.** Папаян, Л.П. Генерация тромбина у детей с генерализованными инфекционными заболеваниями и полиорганной недостаточностью / Л.П. Папаян, А.А. Вильниц, О.А. Смирнова [и др.] // Вестник гематологии. – 2017. – Т.13, №3. – С. 4-8.
- 141.** Парахонский, А.П. Провоспалительные цитокины в нейроиммунных взаимодействиях / А.П. Парахонский // Современные наукоемкие технологии. – 2013. – №1. – С. 117-118.
- 142.** Парахонский, А.П. Системно-антисистемная регуляция гемостаза при хронической патологии печени / А.П. Парахонский // Фундаментальные исследования. – 2004. – №1. – С. 128-129.
- 143.** Пащенко, И.Г. Состояние системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты при заболеваниях органов дыхания / И.Г. Пащенко, М.С. Камнев, Н.Н. Пащенко [и др.] // Ульяновский медикобиологический журнал. – 2011. – № 4. – С. 32-44.
- 144.** Петрищев, Н.Н. Гемостаз. Физиологические механизмы, принципы диагностики основных форм геморрагических заболеваний / Н.Н. Петрищев, Л.П. Папаян // – СПб.: ГМУ, 1999. – 117с.
- 145.** Полохов, Д.М. Редкая форма тромбоцитопатии с нарушением прокоагулянтной активности и секреции тромбоцитов /

Д.М. Полохов, С.А. Васильев, Н.И. Зозуля [и др.] // Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. – 2018. – Т.17, №1. – С. 93-96.

**146.** Портнягина, Е.В. Клиническая фармакология препаратов влияющих на процессы тромбообразования / Е.В. Портнягина. – И.: ИГМИ, 2011. – 19с.

**147.** Порушничак, Д.Е. Свертываемость артериальной и венозной крови при заболеваниях сердечно-сосудистой системы / Д.Е. Порушничак, Е.Б. Порушничак // Труды VII сибирского съезда физиологов: тез. докл. - Красноярск, 2012. - С. 433-435.

**148.** Порушничак, Д.Е. Состояние системы гемостаза в различных бассейнах сосудистого русла у практически здоровых людей и больных ИБС: дисс. ... канд. мед. н.: 14.03.03 / Порушничак Дмитрий Евгеньевич. – Чита, 2013. – 125 с.

**149.** Провоторов, В.М. Антиоксидантная терапия при бронхиальной астме / Провоторов В.М., Будневский А.В., Филатова Ю.И., Перфильева М.В. // Клиническая медицина. – 2015. – Т.93, № 8. – С. 19-22.

**150.** Радайкина, О.Г. Роль эндотелиальной дисфункции в патологии сердечно-сосудистой системы / О.Г. Радайкина, А.П. Власов, Н.А. Мышкина // Ульяновский медико-биологический журнал. – 2018. – № 4. – С. 8-17.

**151.** Ральченко, И.В. Роль тромбоцитов, эритроцитов и лейкоцитов в реализации связи между гемостазом и перекисным окислением липидов : автореферат дис. ... доктора биологических наук : 01.03.04 / Ральченко Ирина Викторовна. – Уфа, 1998. – 43 с.

**152.** Рывкин, А.И. Структурно-метаболический статус и функциональные свойства эндотелия при бронхиальной астме у детей / А.И. Рывкин, Р.М. Ларюшкина, Н.С. Побединская [и др.] // Медицинский альманах Педиатрия. – 2013. – Т.30, №6. – С. 125-127.

**153.** Савельева, К.Р. Гепарин и низкомолекулярные гепарины (обзор литературы) / К.Р Савельева., Л.Е. Фрумин, В.Н. Шестаков // Вестник службы крови России. – 2013. – №4. – С. 46-56.

- 154.** Саидов, Е.У. Клиническое значение исследования молекул средней массы и продуктов деградации фибрина/фибриногена у больных ревматоидным артритом: автореф. дисс. ... канд. мед. наук: 14.00.05 / Саидов Ёр Умарович. – Душанбе, 1999. – 24с.
- 155.** Самородов, А.В. Антиагрегационная активность нового производного ксантина в условиях гиперагрегации тромбоцитов *in vitro* / А.В. Самородов, Ф.Х. Камилов, Ф.А. Халиуллин [и др.] // Казанский медицинский журнал. – 2015. – Т. 96, №5. – С. 857-862.
- 156.** Самородов, А.В. Результаты доклинических исследований новой циклогексиламмониевой соли 2-[3-метил-7-(1,1-диоксотетанил-3)-1-этилксантинил-8-тио]уксусной кислоты в отношении системы гемостаза в условиях *in vivo* / А.В. Самородов, Ф.Х. Камилов, Ф.А. Халиуллин [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2016. – Т.19, №8. – С. 10-17.
- 157.** Свешникова, А.Н. Роль трансмембранных гликопротеин, интегринов и серпентинов в адгезии и активации тромбоцита / А.Н. Свешникова, А.В. Беляев, М.А. Пантелеев, Д.Ю. Нечипуренко // Биологические мембраны: Журнал мембранной и клеточной биологии. – 2018. – Т.35, №5. – С. 351-363.
- 158.** Сетко, И.М. Современные проблемы состояния здоровья школьников в условиях комплексного влияния факторов среды обитания / И.М. Сетко, Н.П. Сетко // Оренбургский медицинский вестник. – 2018. – Т. VI, №2 (22). – С. 4-13.
- 159.** Силина, Н.Н. Тест генерации тромбина у пациентов с дефицитом фактора XII / Н.Н. Силина, О.Ю. Матвиенко, О.Г. Головина, Л.П. Папаян // Вестник гематологии. – 2018. – Т.14, №1. – С. 60.
- 160.** Симбирцев, С.А. Микроэмболия легких / С.А. Симбирцев, Н.А. Беляков. – Л.: Медицина, 1986. – 132с.
- 161.** Симбирцев, С.А. Регуляторная активность легких / С.А. Симбирцев // Физиол. висцеральных систем. – 1992. – Т.3. – С. 130-136.

- 162.** Симоненков, А.П. О генезе нарушений микроциркуляции при тканевой гипоксии, шоке и диссеминированном внутрисосу-дистом свертывании крови / А.П. Симоненков, В.Д. Федоров // Анест. и реаним. – 1998. – №3. – С. 32-35.
- 163.** Симонова, И.Н. Влияние наночастиц воздушной среды на состояние бронхолегочной системы / И.Н. Симонова, М.В. Антонюк, Т.И. Виткина // Бюллетень. – 2013. – №49. – С. 115-120.
- 164.** Слепцова, А.И. Состояние периферической крови как показатель ранних нарушений здоровья у работников современных предприятий добычи и переработки нефти. Современное состояние вопроса / А.И. Слепцова, А.Б. Бакиров, Л.М. Масыгутова // Здоровье населения и среда обитания. – 2017. – №11 (296). – С. 25-28.
- 165.** Соколов, Е.И. Влияние фактора Виллебранда и эндотелина-1 на формирование тромботического статуса при ишемической болезни сердца / Е.И. Соколов, Т.И. Гришина, С.Р. Штин // Кардиология. – 2013. – Т.33, №3. - С. 25-30.
- 166.** Солдатова, О.А. Гемостатические свойства сосудистой стенки у пациентов с артериальной гипертонией при метаболическом синдроме, получавших коррекционный комплекс с ирбесартаном / О.А. Солдатова // Фундаментальные исследования. – 2015. – №2-12. – С. 2613-2616.
- 167.** Солиев, А.У. Клинические эффекты и механизмы действия гепарина - (обзор литературы) / А.У. Солиев, Ш. Собиров // Биология и интегративная медицина. – 2017. – №4. – С. 152-162.
- 168.** Соловьева, А.Г. Действия газообразного и растворенного озона на состояние про- и антиоксидантных систем крови *in vitro* / А.Г. Соловьева С. П. Перетягин А. А. Мартусевич А. К. Мартусевич // Биорадикалы и антиоксиданты. – 2016. – Т.3, №1. – С. 18-21.
- 169.** Солун, М.Н. Нарушения системы гемостаза и антитромбогенной активности сосудистой стенки и их роль в патогенезе диабетических ангиопатий / М.Н. Солун, В.Ф. Киричук, Н.И. Дихт // Успехи современного естествознания. – 2011. – № 2 – С. 32-34.
- 170.** Сосновских, И.В. Влияние хронической обструктивной болезни легких на

гемостаз и функцию эндотелия у пациентов старческого возраста с хронической сердечной недостаточностью ишемического генеза / И.В. Сосновских, С.П. Сеницын // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2011. – Вып.42. – С. 34-38.

**171.** Струкова, С.М. Тромбин - регулятор процессов воспаления и репарации / С.М. Струкова // Биохимия. – 2001. – Т.66, №1. – С. 14-27.

**172.** Сурин, М.В. О градиентах диффузии газов через аэрогематический барьер у пациентов с острым повреждением легких прямого генеза / М.В. Сурин // В мире научных открытий. – 2014. – № 2 (50). – С. 322-329.

**173.** Сурина-Марышева, Е.Ф. Наличие эндогенных токсинов на эритроцитах при острой физической нагрузке и влияние церулоплазмينا / Е.Ф. Сурина-Марышева, Е.Н. Ермолаева, Д.М. Смирнов // Вестник ЮУрГУ. – 2008. – №4. – С.74-76.

**174.** Сыромятникова, Н.В. Нереспираторная функция легких / Н.В. Сыромятникова, В.И. Гончарова // Болезни органов дыхания. М.: Медицина, 1991. – С. 193-202.

**175.** Сыромятникова, Н.В., Метаболическая активность легких / Н.В. Сыромятникова, В.А. Гончарова, Т.В. Котенко. – Л.: Медицина, 1987. – 166с.

**176.** Тепляков, А.И. Роль молекул клеточных адгезивных и цитокинов в регуляции межклеточных взаимодействий при атеросклерозе / А.И. Тепляков, Н.Г. Кручинский, Е.В. Прищепова, Т.И. Чегерова // Ангиология и сосудистая хирургия. – 1999. – №5(3). – С. 11-15.

**177.** Тиммерс, К.М. Ингибитор сериновых протеаз и фармацевтическая композиция на его основе: пат. 2232760 Рос. Федерация, МПК С07D 401/12, С07D 401/12 / К.М. Тиммерс, Й.Б.М. Ревинкел. – №2232760; заявл.1999.10.19; публ. 20.07.2004.

**178.** Тривно, Н.Н. Изменения гемостазиологического профиля крыс при хроническом воздействии сероводородсодержащего газа и возможности их коррекции / Н.Н. Тривно, Х.М. Галимзянов, Д.М. Никулина [и др.] // Астраханский медицинский журнал. – 2017. – Т.12, №2. – С. 75-81.

- 179.** Тривно, Н.Н. Об эффективности применения препарата "вессел дуэф" в условиях хронического воздействия сероводородсодержащим газом / Н.Н. Тривно, Т.А. Шишкина // Успехи современного естествознания.– 2007. – № 12. – С. 385.
- 180.** Тривно, Н.Н. Применение днк-аптамера ингибитора тромбина и ацетилсалициловой кислоты для коррекции предтромботических нарушений / Н.Н. Тривно, Е.В. Голубкина, О.С. Дюкарева, М.Н. Тривно // Фармакология разных стран: сборник статей Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, 28-29 марта 2017 г. – Курск, 2017. – С. 34 – 36.
- 181.** Трофимов, В.И. Особенности дисфункции эндотелия у больных различными клинико-патогенетическими вариантами бронхиальной астмы / В.И. Трофимов, В.И. Немцов, Н.М. Де Сильва // Актуальные направления научных исследований XXI века: теория и практика. – 2014. – Т.2, №6(11). – С. 27-31.
- 182.** Тупеев, И.Р. Роль эндотелиальных клеток в регуляции метаболической функции легких / И.Р. Тупеев, О.А. Гомазков // Патол. физиол. и эксперим. терапия. – 1984. – №1. – С.78-82.
- 183.** Ульянов, А.М. Влияние комплекса гепарин-лизин на гемостатическую и инсулярную систему / А.М. Ульянов, Л.А. Ляпина, В.Е. Пасторова [и др.] // Известия РАН. Серия биологическая. – 2004. – №5. – С. 581-584.
- 184.** Умарходжаев, Е.М. Изменение серотонин и брадикининразрушающей способности легких при 3-часовом геморрагическом шоке / Е.М. Умарходжаев, А.А. Линчевская // Здравоохранение Узбекистана. – 1987. – №4. – С. 93-94.
- 185.** Уракова, М.А. Сурфактант и водный баланс легких при экспериментальном внутримозговом кровоизлиянии и ишемии головного мозга / М.А. Уракова, И.Г. Брындина // Вестник уральской медицинской академической науки. – 2014. – №2. – С. 187-189.
- 186.** Федоренко, А.А. Взаимосвязь характера нарушений гемостаза со степенью дыхательной недостаточности / А.А. Федоренко // Вестн. Интенс. Терапии. – 2007. – №5(прилож.). – С.– 57.



- 187.** Федосеев, Г.Б. Бронхиальная астма / Г.Б. Федосеев, В.И. Трофимов. – СПб.: Нордмедиздат, 2006. – 308с.
- 188.** Филиппова, О. И. Методы исследования функциональной активности тромбоцитов (обзор литературы) / О. И. Филиппова, А. В. Колосков, А. А. Столица // Трансфузиология. – 2012. – Т. 13. – С. 493-515.
- 189.** Христич, Т.М. Особенности цитокинового статуса и функционирования эндотелия в динамике лечения больных хронической обструктивной болезнью легких с сопутствующим хроническим панкреатитом / Т.М. Христич, Я.М. Телеки, Д.А. Гонцарюк // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2012. – №7. – С. 17-21.
- 190.** Цейликман, В.Э. Биохимические стратегии адаптации в условиях хронического стресса / В.Э. Цейликман, О.Б. Цейликман, А.И. Сеницкий [и др.] // Вестник ЮУрГУ. – 2008. – № 4. – С. 56-57.
- 191.** Цушко, В.С. О сущности годовых ритмов в системе плазмокоагуляции / В.С. Цушко, А.Ш. Бышевский, А.Н. Дубяга, С.Л. Галян // Хронобиология и хрономедицина: Тез. Докл. 2-го симпозиума СССР – ГДР. – Тюмень, 1982. – С. 12 - 13.
- 192.** Челушкин, А.М. Активация контактного пути свертывания крови на циркулирующих микровезикулах может объяснить гиперкоагуляцию при разбавлении плазмы / А.М. Челушкин, М.А. Пантелеев, Т.А. Коваленко [и др.] // Биологические мембраны. – 2017. – Т.34, №2. – С. 1745- 1755.
- 193.** Чепис, М.В. Тромбоцитарный и коагуляционный гемостаз при патологии щитовидной железы / М.В. Чепис, Д.И. Бояринцев, Е.С. Ральченко, Ю.В. Болдырева // Университетская медицина Урала. – 2018. – Т.4, №1(12). – С. 95-97.
- 194.** Чернеховская, Н.Е. Системная патология при хронической обструктивной болезни легких / Н.Е. Чернеховская, Т.А. Федорова, В.Г. Андреев, М.М. Кириллов. – М.: Экономика и информатика Россия, 2005. – 192с.
- 195.** Чеснокова, Н.П. Молекулярно-клеточные механизмы инактивации свободных радикалов в биологических системах / Н.П. Чеснокова, Е.В.

- Понукалина, М.Н. Бизенкова // Успехи современного естествознания. – 2006. – №7. – С. 29-36.
- 196.** Чечулова, А.В. Полиморфизм гена тканевого активатора плазминогена и риск рецидива венозного тромбоза у пациентов молодого возраста / А.В. Чечулова, С.И. Капустин, В.Е. Солдатенков [и др.] // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2018. – Т.76, №4. – С. 10-15.
- 197.** Шахматов, И.И. Реакции системы гемостаза на стрессорные воздействия и возможности их коррекции: автореф. дис. ... док. мед. наук: 14.03.03 / И. И. Шахматов Игорь Ильич. – Барнаул, 2011. – 47 с.
- 198.** Шахматова, О.О. Специфические антитоты к новым пероральным антикоагулянтам / О.О. Шахматова // Атеротромбоз. – 2016. – №1. – С. 81-94.
- 199.** Шитикова, А.С. Гемостаз. Физиологические механизмы, принципы диагностики основных форм геморрагических заболеваний / под ред. Н.Н. Петрищева, Л.П. Папаян. – СПб., 1999. – С.49-53.
- 200.** Шитикова, А.С. Тромбоцитарный гемостаз / А. С. Шитикова – СПб.: СПб ГМУ, 2000. – 227с.
- 201.** Шишкина, Т.А. Морфологические проявления вазомоторной дисфункции эндотелия на фоне хронического воздействия сероводородсодержащего газа / Т.А. Шишкина, Н.Н.Тризно, М.В. Мажитова, О.А. Доброславская // Морфология. – 2009. – Т.136, № 4. – С. 157b.
- 202.** Шиффман, Ф.Дж. Патофизиология крови / Ф.Дж. Шиффман. – М.: «Издательство БИНОМ» – «Невский Диалект», 2000. – 448с.
- 203.** Шпагина, Л.А. Эндотелиальная дисфункция и ремоделирование сосудов при артериальной гипертензии в сочетании с хронической обструктивной болезнью легких: новые терапевтические мишени / Л.А. Шпагина, О.Н. Герасименко, М.А. Зуева // Пульмонология. – 2009. – №9. – С. 47-54.
- 204.** Шубик, Ю.В. Особенности профилактики тромбоэмболических осложнений у больных с фибрилляцией предсердий в России / Ю.В. Шубик // Вестник аритмологии. – 2017. – №87. – С. 5-6.

- 205.** Шур В.Ю. Метаболическая функция легких и серотонинергические процессы при острой дизентерийной и дифтерийной интоксикациях: автореф. дисс. ... канд. мед. наук:14.00.16 / Шур Владимир Юльевич – Казань, 1989. – 22с.
- 206.** Юшков, Б.Г. Понятие нормы в физиологии (физиологические константы лабораторных животных) / Б.Г. Юшков, В.А. Черешнев. – Екатеринбург: Наука Россия, 2016. – 616 с.
- 207.** Ярек-Мартынова, И.Р. Влияние контролируемого перехода от гипергликемии до гипогликемии на агрегацию тромбоцитов и активность физиологических антикоагулянтов и фактора виллебранда у больных сахарным диабетом 1 типа / И.Р. Ярек-Мартынова, М.Ю. Мартынов, К.Г. Саркисова [и др.] // Сахарный диабет. – 2018. – Т.21, №2. – С. 84-91.
- 208.** Ярошинская, А.П. Функционально-морфологическое состояние плазмы крови и эритроцитов человека в юношеском, взрослом и зрелом возрастах в норме и в условиях воздействия серосодержащих поллютантов: автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.03.01 / Ярошинская Алевтина Павловна. – Астрахань, 2011. – 34с.
- 209.** Ярыга, В.В. Гематологические и биохимические показатели крови рабочих астраханского газоперерабатывающего завода / В.В. Ярыга, В.И. Бойко, Ю.И. Доценко [и др.] // Международный научно-исследовательский журнал. – 2017. – №12-4 (66). – С. 103-106.
- 210.** Aaldering L.J. Development of an efficient G-quadruplex-stabilisedthrombin-binding aptamer containing a three-carbon spacer molecule / L.J. Aaldering, V. Poongavanam, N. Langkjaer [et al.] // Chembiochem. – 2017. – Vol.18, №8. – P. 755-763. doi: 10.1002/cbic.201600654.
- 211.** Amir Aslani, B. Studies on oxidants and antioxidants with a brief glance at their relevance to the immune system / B. Amir Aslani, S. Ghobadi // Life Sci.– 2016 Vol.146. – P. 163-73. doi: 10.1016/j.lfs.2016.01.014.
- 212.** Arneth, B. Coevolution of the coagulation and immune systems Coevolution of the coagulation and immune systems / B. Arneth // Inflamm Res. – 2019. – Vol.68, №2. – P. 117-123. doi: 10.1007/s00011-018-01210-y.

- 213.** Arsenault, K.A. Direct thrombin inhibitors in cardiovascular disease / K.A. Arsenault, J. Hirsh, R.P. Whitlock, J.W. Eikelboom // *Nat. Rev. Cardiol.* – 2012. – Vol. 9. – P. 402-414.
- 214.** Amiral, J. The contact system at the crossroads of various key pathophysiological functions: Update on present understanding, laboratory exploration and future perspectives / J. Amiral, J. Seghatchian // *Transfus Apher Sci.* – 2019. doi: 10.1016/j.transci.2019.03.013.
- 215.** Atalan, H.K. The combined use of pumpless extracorporeal lung assist and continuous arteriovenous hemofiltration with citrate anticoagulation in polytrauma patients / H.K. Atalan, B. Gucyetmez, M. Dumantepe [et al.] // *Intensive Care Med.* – 2015. – Vol.41, №11. – P. 2024-2025. doi: 10.1007/s00134-015-4019-3.
- 216.** Bauer, K.A. Duration of anticoagulation: applying the guidelines and beyond / K.A. Bauer // *Hematology Am SocHematolEduc Program.* – 2010. – P. 210-215. doi: 10.1182/asheducation-2010.1.210.
- 217.** Bick, R.L. Current status of thrombosis: a multidisciplinary medical issue and major American health problem: beyond the year 2000 / R.L. Bick, J. Fareed // *Clin Appl Thromb Haemost.* – 1997. – Vol.3. – P. 875–95.
- 218.** Bijli, K.M. Phospholipase C- $\epsilon$  signaling mediates endothelial cell inflammation and barrier disruption in acute lung injury / K.M. Bijli, F. Fazal, S.A. Slavin [et al.] // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol Physiol.* – 2016. – Vol.311, №2. – P. 517-524. doi: 10.1152/ajplung.00069.2016.
- 219.** Caldwell, S.H. Coagulation disorders and hemostasis in liver disease: pathophysiology and critical assessment of current management / S.H. Caldwell, M. Hoffman, T. Lisman [et al.] // *Hepatology.* – 2006. – Vol. 44. – P. 1039-1046.
- 220.** Camerer, E. Bench to bedside: targeting coagulation and fibrinolysis in acute lung injury / E. Camerer, L.B. Ware, K. Welty Wolf [et al.] // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol Physiol.* – 2006. – Vol.291, №3. – P. 307-311.
- 221.** Caraher, E.J. Receptor for advanced glycation end-products and World Trade Center particulate induced lung function loss: A case-cohort study and murine model of

- acute particulate exposure / E.J. Caraher, S. Kwon, S.H. Haider [et al.] // PLoS One. – 2017. – Vol.12, №9. doi: 10.1371/journal.pone.0184331.
- 222.** Cebová, M. Cardiovascular effects of gasotransmitter donors / M. Cebová, M. Košútová, O. Pecháňová // *Physiol Res.* – 2016. – № 65. – P. 291-307.
- 223.** Chen, J. Continuous venovenous hemofiltration decreases mortality and ameliorates acute lung injury in canine model of severe salt water drowning / J. Chen, G. Chen, D. Xiao [et al.] // *Scand J. Trauma Resusc Emerg Med.* – 2016. – Vol.24. – P. 40. doi: 10.1186/s13049-016-0224-5.
- 224.** Chen, W.M. Effects and mechanisms of high-volume hemofiltration on endotoxin-induced acute lung injury of piglets / W.M. Chen, G.F. Yan, Z.J. Lu, G.P. Lu // Abstract available in Chinese from the publisher. – 2017. – Vol.55, №5. – P. 343-348. doi: 10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2017.05.007.
- 225.** Chen, Y. Ambient air pollution of particles and gaseous pollutants, and the predicted health risks from long-term exposure to PM<sub>2.5</sub> in Zhejiang province / Y. Chen, L. Zang, W. Du [et al.] // *Environ Sci Pollut Res. Int.* – 2018. – Vol.6. – P. 2420-2425. doi: 10.1007/s11356-018-2420-5.
- 226.** Cheung, P.Y. Effects of post-resuscitation administration with sodium hydrosulfide on cardiac recovery in hypoxia-reoxygenated newborn piglets / P.Y. Cheung, M. Miedzyblocki, T.F. Lee, D.L. Bigam // *Eur J. Pharmacol.* – 2013. – Vol.718, №3. – P. 74-80. DOI: 10.1016/J.EJPHAR.2013.09.017.
- 227.** Chimenti, L. Nebulized heparin attenuates pulmonary coagulopathy and inflammation through alveolar macrophages in a rat model of acute lung injury / L. Chimenti, M. Camprubí-Rimblas, R. Guillaumat-Prats [et al.] // *Thromb. Haemost.* – 2017. – Vol.117, №11. – P. 2125-2134. doi: 10.1160/TH17-05-0347.
- 228.** Claussen, C. Clinical significance of hemostatic activation markers in women with suspected ovarian cancer / C. Claussen, A.V. Rausch, B. Spath [et al.] // *Oncol Res Treat.* – 2014. – Vol.37. – P. 669.
- 229.** Christie, J.D. Association of protein C and type 1 plasminogen activator inhibitor with primary graft dysfunction / J.D. Christie, N. Robinson, L.B. Ware [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2007. – Vol.175, №1. – P. 69-74.

- 230.** Dammacco, F. Cancer-related coagulopathy (Trousseau syndrome): review of the literature and experience of a single center of internal medicine / F. Dammacco, A. Vacca, P. Procaccio [et al.] // *ClinExp Med.* – 2013. – Vol.13. – P. 85-97.
- 231.** De Luca, C. Neuro-Coagulopathy: blood coagulation factors in central nervous system diseases / C. De Luca, A. Virtuoso, N. Maggio, M. Papa // *Int. J. Mol. Sci.* – 2017. – Vol.18, №10. – P. 21-28.
- 232.** Deanfield, J. Endothelial function and dysfunction / J. Deanfield // *J. Hypertension.* – 2011. – Vol.23. – P. 7-17.
- 233.** Delabranche, X. Immunohaemostasis: a new view on haemostasis during sepsis / X. Delabranche, J. Helms, F. Meziani // *Ann Intensive Care.* – 2017. – Vol.7. – P. 117.
- 234.** Demers, M. NETosis: a new factor in tumor progression and cancer-associated thrombosis / M. Demers, D.D. Wagner // *SeminThromb Hemost.* – 2014. – Vol.40. – P. 277-283.
- 235.** Dietrich, A. Transient receptor potential (TRP) channels as molecular targets in lung toxicology and associated diseases / A. Dietrich, D. Steinritz, T. Gudermann // *Cell Calcium.* – 2017. – Vol.67. – P. 123-137. doi: 10.1016/j.ceca.2017.04.005.
- 236.** Ding, C. Limited role of kininogen in the host response during gram-negative pneumonia-derived sepsis / C. Ding, C. van 't Veer, J.T. Roelofs [et al.] // *Am. J. Physiol Lung Cell Mol Physiol.* – 2018. – Vol.314, №3. – P. 397-405. doi: 10.1152/ajplung.00288.2017.
- 237.** Dizdaroglu, M. Measurement of oxidatively induced DNA damage and its repair, by mass spectrometric techniques / M. Dizdaroglu, E. Coskun, P. Jaruga // *Free Radic Res.* – 2015. – Vol. 49. – P. 525-548.
- 238.** Donatti, A.F. Involvement of endogenous hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) in the rostral ventrolateral medulla (rvlm) in hypoxia-induced hypothermia / A.F. Donatti, R.N. Soriano, J.P. Sabino, L.G. Branco // *Brain Res Bull.* – 2014. – Vol.108. – P. 94-99. doi: 10.1016/j.brainresbull.2014.08.010.
- 239.** Drexler, H. Endothelial dysfunction in human disease / H. Drexler // *J. Mol. Cell. Cardiol.*5. – 2009. – Vol.31. – P. 51-60.

- 240.** Du, H. Occurrence of venous thromboembolism in patients with lung cancer and its anticoagulant therapy / H. Du, J. Chen // *Zhongguo Fei Ai Za Zhi.* – 2018. – Vol.21, №10. – P. 784-789. Doi: 10.3779/J.Issn.1009-3419.2018.10.09.
- 241.** Enami, S. OH-radical oxidation of lung surfactant protein b on aqueous surfaces / S. Enami, A.J. Colussi // *Mass Spectrom.* – 2018. – Vol.7, №2. – P. 0077. doi: 10.5702/massspectrometry.
- 242.** Fukuda, S. Lack of durable protection against cotton smoke-induced acute lung injury in sheep by nebulized single chain urokinase plasminogen activator or tissue plasminogen activator / S. Fukuda, P. Enkhbaatar, C. Nelson [et al.] // *Clin Transl Med.* – 2018. – Vol.7, №1. – P. 17. doi: 10.1186/s40169-018-0196-3.
- 243.** Fuchs, T.A. Neutrophil extracellular trap (NET) impact on deep vein thrombosis / T.A. Fuchs, A. Brill, D.D. Wagner // *Arterioscler Thromb Vase Biol.* – 2012. – Vol.32. – P. 1777-1783.
- 244.** Fujino, Y. Case followed by delayed loss of consciousness after exposure to hydrogen sulfide that was treated with intermittent administration of sodium nitrite // Y. Fujino, Y. Inoue, M. Onodera [et al.] // *Chudoku Kenkyu.* – 2010. – Vol.23, №4. – P. 297-302.
- 245.** Geddings, J.E. Tumor-derived tissue factor-positive microparticles and venous thrombosis in cancer patients / J.E. Geddings, N. Mackman // *Blood.* – 2013. – Vol.122. – P. 1873-1880.
- 246.** Gezelius, E. Coagulation biomarkers and prediction of venous thromboembolism and survival in small cell lung cancer: a sub-study of RASTEN - a randomized trial with low molecular weight heparin / E. Gezelius, A. Flou Kristensen, P.O. Bendahl [et al.] [et al.] // *Plos One.* – 2018. – Vol.13, №11. Doi: 10.1371/Journal.Pone.0207387.
- 247.** Halliwell, B.H. *Free Radicals in Biology and Medicine* / B.H. Halliwell, J.M. Gutteridge // Fourth Edition. – Oxford: Oxford Univ. Press, 2007. – 888 p.
- 248.** Hammond, E. G. Brief history of lipid oxidation / E.G. Hammond, P.J. White // *J. Am. Oil Chemists' Society.* – 2011. – Vol.88, №7. – P. 891-897.
- 249.** Heeschen, C. Predictive value of C-reactive protein and troponin T in patients with unstable angina: a comparative analysis. CAPTURE Investigators. Chimeric c7E3

antiplatelet therapy in unstable angina refractory to standard treatment trial / C. Heeschen, C.W. Hamm, J. Bruemmer, M.L. Simoons // *J. Amer. Coll. Cardiology.* – 2000. – Vol. 35. – P. 1535-1542.

**250.** Hemker, H.C. Thrombin generation, a function test of the haemostatic thrombotic system / H.C. Hemker, R.A. Dieri, E. Smedt, S. Beguin // *Thrombosis and Haemostasis.* 2006. – Vol.96, №5. – P. 553 - 561.

**251.** Hsin, M.K. Metabolic profile of ex vivo lung perfusate yields biomarkers for lung transplant outcomes / M.K. Hsin, R. Zamel, M. Cypel [et al.] // *Ann Surg.* – 2018. – Vol.267, №1. – P. 196-197. doi: 10.1097/SLA.0000000000002016.

**252.** Huang, S.A. Cardioprotective insight of the cystathionine  $\gamma$ -lyase/hydrogen sulfide pathway / S. Huang, H. Li, J. Ge // *Int. J. Cardiol Heart Vasc.* – 2015. – Vol. 7, №7. – P. 51-57. doi: 10.1016/j.ijcha.2015.01.010.

**253.** Hunington, J.A. The molecular basis of thrombin allostery revealed by a 1.8 Å structure of the “Slow” form / J.A. Hunington, C.T. Esmon // *Structure.* – 2003. – Vol.11. – P. 469-479.

**254.** Ibrahim, S.S. Low molecular weight heparins for current and future uses: approaches for micro- and nano-particulate delivery / S.S. Ibrahim, R. Osman, G.A. Awad [et al.] // *Drug Deliv.* – 2016. – Vol.23, №8. – P. 2661-2667.

**255.** Idell, S. Coagulation, fibrinolysis, and fibrin deposition in acute lung injury / S. Idell // *Crit. Care Med.* – 2003. – Vol.31, №4. – P. 213—220.

**256.** Ilich, A. Global assays of fibrinolysis / A. Ilich, I. Bokarev, N.S. KeyI // *nt J. Lab Hematol.* – 2017. – Vol. – 39, №5. – P. 441-447. doi: 10.1111/ijlh.12688.

**257.** Ishiara, H. Protease-activated receptor 3 is a second thrombin receptor in humans / H. Ishiara, A.J. Connolly, D. Zeng [et al.] / *Nature Coughlin SR.* – 1997. – Vol.386. – P. 502–506.

**258.** Jain, A. Primary human lung alveolus-on-a-chip model of intravascular thrombosis for assessment of therapeutics / A. Jain, R. Barrile, A.D. van der Meer [et al.] // *Clin Pharmacol Ther.* – 2018. – Vol.103, №2. – P. 332-340. doi: 10.1002/cpt.742.

**259.** Jomova, K. Advances in metal-induced oxidative stress and human diseases / K. Jomova, M. Valko // *Toxicology.* – 2011. – Vol.283. – P. 65-87.



- 260.** Kadioglu, O. Aptamers as a novel tool for diagnostics and therapy / O. Kadioglu, A.H. Malczyk, H.J. Greten, T. Efferth // *Invest New Drugs*. – 2015. doi: 10.1007/s10637-015-0213-y.
- 261.** Kahn, M.L. A dual thrombin receptor system for platelet activation / M.L. Kahn, Y.W. Zheng, W. Huang [et al.] // *Nature Coughlin SR*. – 1998. – Vol.394. – P. 690–694.
- 262.** Keefe, A.D. Aptamers as therapeutics / A.D. Keefe, S.A. Pai // *Ellington Nat Rev Drug Discov*. – 2010. – Vol. 9. – P. 537-550.
- 263.** Kim, H.J. Sevoflurane did not show better protective effect on endothelial glycocalyx layer compared to propofol during lung resection surgery with one lung ventilation // H.J. Kim, E. Kim, S.H. Baek [et al.] // *J Thorac Dis*. – 2018. – Vol.10, №3. – P. 1468-1475. doi: 10.21037/jtd.2018.03.44.
- 264.** Kimura, H. Production and physiological effects of hydrogen sulfide. / H. Kimura // *Antioxid Redox Signal*. – 2014. – Vol.20, №5. – P. 783-93. doi: 10.1089/ars.2013.5309.
- 265.** Kireev, N.Y. Popenko, A.V. Pichugin, M.A. Panteleev, O.V. Krymskaya, F.I. Ataulakhanov // *Thrombosis and Haemostasis*. – 2007. – Vol. 97, №3. – P. 425-434.
- 266.** Kocatiirk, B. Tissue factor isoforms in cancer and coagulation: may the best isoform win / B. Kocatiirk, H.H. Versteeg // *Thromb Res*. – 2012. – Vol.129. – P. 69-75.
- 267.** Kohen, R. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification / R. Kohen, A. Nyska // *Toxicol. Pathol*. – 2002. – Vol.30. – P. 620-650.
- 268.** Kotkowiak, W. Thermodynamic, anticoagulant, and antiproliferative properties of thrombin binding aptamer containing novel UNA derivative / W. Kotkowiak, J. Lisowiec-Wachnicka, J. Grynda [et al.] // *Mol The Nucleic Acids*. – 2018. – Vol. 10. – P. 304-316. doi: 10.1016/j.omtn.2017.12.013.
- 269.** Krabbe, J. The effects of zinc- and copper-containing welding fumes on murine, rat and human precision-cut lung slices / J. Krabbe, A. Esser, S. Kanzler [et al.] // *J. Trace Elem Med Biol*. – 2018. – Vol.49. – P. 192-201. doi: 10.1016/j.jtemb.2018.03.008.
- 270.** Kudaeva, I.V. Biochemical markers of endothelial dysfunction and cardiovascular

system state in patients with occupational bronchopulmonary diseases / I.V. Kudaeva, L.B. Masnavieva, O.A. D'yakovich [et al.] // *Med. Tr. Prom Ekol.* – 2017. – Vol.1. – P. 6-10.

**271.** Kuznik, B.I. Cellular and molecular mechanisms of a regulation of hemostasis system in norm and pathology / B.I. Kuznik. — Chita: Express publishing house, 2010. — 240 p.

**272.** Langer, F. Crosstalk between cancer and haemostasis. Implications for cancer biology and cancer-associated thrombosis with focus on tissue factor / F. Langer, C. Bokemeyer // *Hamostaseologie.* – 2012. – Vol. 32. – P. 95-104.

**273.** Lee, S.H. Synthesis and thrombin, Factor Xa and U46619 inhibitory effects of non-amidino and amidino N<sup>2</sup>-thiophenecarbonyl- and N<sup>2</sup>-tosylanthranilamides / S.H. Lee, W. Lee, T. Nguyen [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2017. – Vol. 18, № 6. – P. 1144. doi: 10.3390/ijms18061144 PMID: PMC5485968

**274.** Li, W. Development of aptamer oligonucleotides as anticoagulants and antithrombotics for cardiovascular diseases: current status / W. Li, K. Wang, M. Zhao [et al.] // *Thromb Res.* – 2014. – Vol. 134. – P. 769–773.

**275.** Lin, C.K. Risks and burden of lung cancer incidence for residential petrochemical industrial complexes: A meta-analysis and application / C.K. Lin, Y.T. Hsu, D.C. Christiani [et al.] // *Environ Int.* – 2018. – Vol.121, №1. – P. 404-414. doi: 10.1016/j.envint.2018.09.018.

**276.** Lincoff, A.M. REGULATE - PCI Investigators. Effect of the REG1 anticoagulation system versus bivalirudin on outcomes after percutaneous coronary intervention (REGULATE-PCI): a randomised clinical trial / A.M. Lincoff, R. Mehran, T.J. Povich [et al.] // *Lancet.* – 2016. – Vol.387. – P. 349–356.

**277.** Liuzzo, G. C-reactive protein directly induces the activation of the transcription factor NFκB in human monocytes: a clue to pathogenesis of acute coronary syndromes? (Abstr.) / G. Liuzzo, C. Colussi, F. Ginnetti [et al.] // *Eur. Heart. J.* – 2001. – Vol. 22. – P. 372.

- 278.** Lo, L. Tissue factor expression in the metaplasia-adenoma-carcinoma sequence of gastric cancer in a European population / L. Lo, H. Valentine, J. Harrison [et al.] // *Br. J. Cancer*. – 2012. – Vol.107. – P. 1125-1130.
- 279.** Malerba, M. The potential role of endothelial dysfunction and platelet activation in the development of thrombotic risk in COPD patients / M. Malerba, M. Nardin, A. Radaeli [et al.] // *Expert. Rev. Hematol.* – 2017. – Vol.10, №9. – P. 821-832. Doi:10.1080/17474086.2017.1353416.
- 280.** Martin, P.D. The structure of residues 7-16 of the  $\alpha$ -chain of human fibrinogen bound to bovine thrombin at 2.3-Å resolution / P.D. Martin, W. Robertson, D. Turk [et al.] // *The Journal of Biological Chemistry*. – 1992. – Vol. 267, №11. – P. 7911-7920.
- 281.** Meng, J.B. Effects of early continuous venovenous hemofiltration on e-selectin, hemodynamic stability, and ventilatory function in patients with septic-shock-induced acute respiratory distress syndrome / J.B. Meng, Z.Z. Lai, X.J. Xu [et al.] // *Biomed Res Int*. – 2016. – doi: 10.1155/2016/7463130.
- 282.** Mengwasser, K.E. Hirudin binding reveals key determinants of thrombin allostery / K.E. Mengwasser, L.A. Bush, P. Shih [et al.] // *The Journal of Biological Chemistry*. – 2005. – Vol.280, №29. – P. 26997-27003.
- 283.** Monroe, D.M. What does it take to make the perfect clot? The refined 1.9-Å X-ray crystal structure of D-Phe-Pro-Arg chloromethylketone-inhibited human  $\alpha$ -thrombin: Structure analysis, overall structure, electrostatic properties, detailed active-site geometry, and structure-function relationships / D.M. Monroe, M. Hoffman, W. Bode, [et al.] // *Protein Science*. – 2006. – №1. – P. 426-471.
- 284.** Ni, X. Nucleic acid aptamers: clinical applications and promising new horizons / X. Ni, M. Castanares, A. Mukherjee, S.E. Lupold // *Curr Med Chem*. – 2011. – Vol. 18. – P. 4206–4214.
- 285.** Nielsen, V.G. The kallikrein-like activity of Heloderma venom is inhibited by carbon monoxide / V.G. Nielsen, N.J. Frank // *Thromb Thrombolysis*. – 2019. doi: 10.1007/s11239-019-01853-6.

- 286.** Oosterhoff, L.A. Characterization of endothelial and smooth muscle cells from different canine vessels // L.A. Oosterhoff, H.S. Kruitwagen, M.E. van Wolferen [et al.] // *Front Physiol.* – 2019. – Vol.10. – P. 101. doi: 10.3389/fphys.2019.00101.
- 287.** Otaki, Y. Dielectric permittivity change detects the process of blood coagulation: Comparative study of dielectric coagulometry with rotational thromboelastometry / Y. Otaki, Y. Ebana, S. Yoshikawa, M. Isobe // *Thromb Res.* – 2016. – Vol.145. – P. 3-11. doi: 10.1016/j.thromres.2016.06.030.
- 288.** Park, E.J. Single-walled carbon nanotubes disturbed the immune and metabolic regulation function 13-weeks after a single intratracheal instillation / E.J. Park, Y.S. Hong, B.S. Lee [et al.] // *Environ Res.* – 2016. – Vol.148. – P. – 184-195. doi: 10.1016/j.envres.2016.03.027.
- 289.** Patel, V.B. Hydrogen sulfide: an old gas with new cardioprotective effects / V.B. Patel, B.A. McLean [et al.] // *Clin Sci (Lond).* – 2015. – Vol.128, №5. – P. 321-323. doi: 10.1042/CS20140668.
- 290.** Pica, A. Through-bond effects in the ternary complexes of thrombin sandwiched by two DNA aptamers / A. Pica, I. Russo Krauss, V. Parente [et al.] // *Nucleic Acids Res.* – 2017. – Vol.45, №1. – P. 461-469.
- 291.** Popova, A.A. Endothelial dysfunction and mechanisms of its formation / A.A. Popova, S.D. Mayanskaya, E.N. Berezikova, N. F. Yakovleva // *Sib. medical review.* – 2010. – № 4. – P. 7-11.
- 292.** Ramsay, M.A. The INR is only one side of the coagulation cascade: time to watch the clot / M.A. Ramsay, J.F. Trotter // *Anaesthesia.* – 2016. – Vol.71, №6. – P. 613-617. doi: 10.1111/anae.13480.
- 293.** Rauova, L. Platelet and monocyte antigenic complexes in the pathogenesis of heparin-induced thrombocytopenia (HIT) / L. Rauova, T.G. Arepally, S.E. McKenzie [et al.] // *J. Thromb. Haemostas.* – 2009. – Vol.7, №1. – P. 249-252.
- 294.** Reihill, J.A. Bacterial proteases and haemostasis dysregulation in the cf lung / J.A. Reihill, M. Moreland, G.E. Jarvis [et al.] // *J. Cyst Fibros.* – 2017. – Vol.16, №1. – P. 49-57. doi: 10.1016/j.jcf.2016.10.006.

- 295.** Russo Krauss, I. Different duplex/quadruplex junctions determine the properties of anti-thrombin aptamers with mixed folding / I. Russo Krauss, V. Spiridonova, A. Pica [et al.] // *Nucleic Acids Res.* – 2016. – Vol. 44, № 2. – P. 983-991. doi: 10.1093/nar/gkv1384.
- 296.** Scuotto, M. Site specific replacements of a single loop nucleoside with a dibenzyl linker may switch the activity of TBA from anticoagulant to antiproliferative / M. Scuotto, E. Riviaccio, A. Varone [et al.] // *Nucleic Acids Research.* – 2015. Vol.43, №16. – P. 7702–7716. doi: :org/10.1093/nar/gkv789
- 297.** Shefa, U. Antioxidant and cell-signaling functions of hydrogen sulfide in the central nervous system / U. Shefa, M.S. Kim, N.Y. Jeong, J. Jung // *Oxid Med Cell Longev.* – 2018. doi: 10.1155/2018/1873962.
- 298.** Shute, J.K. Inhaled nebulised unfractionated heparin improves lung function in moderate to very severe copd: a pilot study / J.K. Shute, L. Calzetta, V. Cardaci [et al.] // *Pulm Pharmacol Ther.* – 2018. – Vol.48. – P. 88-96. doi: 10.1016/j.pupt.2017.10.001.
- 299.** Silva, J.M. Arterial endothelium and atherothrombogenesis II-the role of endothelial dysfunction in atherothrombotic lesions / J.M. Silva, C. Saldanha // *Rev. Port Cardiol.* – 2006. – Vol.25, №12. – P. 1159-1186.
- 300.** Skrzep-Poloczek, B. Effect of whole-body cryotherapy on antioxidant systems in experimental rat model / B. Skrzep-Poloczek, E. Romuk, B. Wiśnowiska [et al.] // *Oxid Med Cell Longev.* – 2017. – doi: 10.1155/2017/8158702.
- 301.** Slattery, K. The role of oxidative, inflammatory and neuroendocrinological systems during exercise stress in athletes: implications of antioxidant supplementation on physiological adaptation during intensified physical training / K. Slattery, D. Bentley, A.J. Coutts // *Sports Med.* – 2015. – Vol.45, №4. P. – 453-71. doi: 10.1007/s40279-014-0282-7.
- 302.** Song, X. Design of Carrageenan-Based Heparin-Mimetic Gel Beads as Self-Anticoagulant Hemoperfusion Adsorbents / X. Song, K. Wang, C.Q. Tang, [et al.] // *Biomacromolecules.* – 2018. – Vol.19. – №6. – P. 1966-1978. doi:10.1021/acs.biomac.7b01724.

- 303.** Spiridonova, V.A. Complex formation with protamine prolongs the thrombin-inhibiting effect of dna aptamer in vivo / V.A. Spiridonova, T.M. Novikova, D.M. Nikulina[et al.] // *Biochimie*2018. – T.145. – C. 158-162.
- 304.** Squier, T.C. Oxidative stress and protein aggregation during biological aging / T.C. Squier // *Exp. Gerontol.* – 2001. – Vol.36. – P. 1539-1550.
- 305.** Tatsumi, K. Hepatocyte is a sole cell type responsible for the production of coagulation factor IX in vivo / K. Tatsumi, K. Ohashi, S. Mukobata [et al.] // *Cell Med.* – 2012. – Vol.31, №3. – P. 25-31. doi: 10.3727/215517912X639496.
- 306.** Ten Cate, H. Coagulation factor and protease pathways in thrombosis and cardiovascular disease / H. Ten Cate, T.M. Hackeng, P. García de Frutos // *Thromb Haemost.* – 2017. – Vol.117, №7. – P. 1265-1271. doi: 10.1160/TH17-02-0079.
- 307.** Thaler, I. Microparticle-associated tissue factor activity in patients with pancreatic cancer: correlation with clinicopathological features / I. Thaler, C. Ay, N. Mackman et al. // *Eur J Clin Invest.* – 2013. – Vol.43. – P. 277-285.
- 308.** Thaler, J. Intratumoral tissue factor expression and risk of venous thromboembolism in brain tumor patients / J. Thaler, M. Preusser, C. Ay [et al.]// *Thromb Res.* – 2013. – Vol.131. – P. 162-165.
- 309.** Tripodi, A. Hemostasis abnormalities in liver cirrhosis: myth or reality? / A. Tripodi // *Polskie archiwum medycyny wewnetrznej.* – 2008. – Vol. 118, №7. – P. 445-447.
- 310.** Tucker, W.O. G-quadruplex DNA aptamers and their ligands: structure, function and application / W.O. Tucker, K.T. Shum, J.A. Tanner // *Curr Pharm Des.* – 2012. – Vol. 18, № 14. – P. 2014-2026.
- 311.** Varki, A. Trousseau's syndrome: multiple definitions and multiple mechanisms / A. Varki // *Blood.* – 2007. – Vol.110. – P. 1723-1729.
- 312.** Vu, T.K. Molecular cloning of a functional thrombin receptor reveals a novel proteolytic mechanism of receptor activation / T.K. Vu, D.T. Hung, V.I. Wheaton // *Cell.* – 1991. – Vol.64, №6. – P. 1057-1068.
- 313.** Walenga, J.M. Evolution of heparin anticoagulants to ultra-low-molecular-weight heparins: a review of pharmacologic and clinical differences and applications in patients

with cancer / J.M. Walenga, G.H. Lyman // *Crit Rev Oncol Hematol.* – 2013. – Vol.88, №1. – P. 1-18. doi: 10.1016/j.critrevonc.2013.06.007.

**314.** Wang, J. Role of microbiota on lung homeostasis and diseases / J. Wang, F. Li, Z. Tian // *Sci China Life Sci.* – 2017. – Vol.60, №12. – P. 1407-1415. doi: 10.1007/s11427-017-9151-1.

**315.** Wang, S.J. Principles of dielectric blood coagulometry as a comprehensive coagulation test / S.J. Wang, M.A. Brun, K. Machida, M. Nagasawa // *Anal Chem.* – 2015. – Vol.87, №19. – P.10072-10079. doi: 10.1021/acs.analchem.5b02723.

**316.** Ware, L.B. Coagulation and fibrinolysis in human acute lung injury — new therapeutic targets? / L.B. Ware, J.A. Bastarache, L. Wang // *Keio J. Med.* – 2005. – Vol.54, №3. – P. 142-149.

**317.** Ware, L.B. Pathogenetic and prognostic significance of altered coagulation and fibrinolysis in acute lung injury/acute respiratory distress syndrome / L.B. Ware, M.A. Matthay, P.E. Parsons [et al.] // *Crit. Care Med.* – 2007. – Vol.35, №8. – P.1821-1828.

**318.** Warkentin, T.E. Heparin-induced thrombocytopenia in patients treated with low-molecular-weight heparin or unfractionated heparin / T.E. Warkentin, M.N. Levine, J. Hirsh, [et al.] // *N Engl J Med.* – 1995. – Vol.332, №20. – P. 1330-1335.

**319.** Webb, E. Potential hazards of air pollutant emissions from unconventional oil and natural gas operations on the respiratory health of children and infants / E. Webb, J. Hays, L. Dyrzka [et al.] // *Rev Environ Health.* – 2016. – Vol.31, №2. – P. 225-243. doi: 10.1515/reveh-2014-0070.

**320.** Wellman, T.J. Lung metabolic activation as an early biomarker of acute respiratory distress syndrome and local gene expression heterogeneity / T.J. Wellman, N. de Prost, M. Tucci [et al.] // *Anesthesiology.* – 2016. – Vol.125, №5. – P. 992-1004.

**321.** Welter, H. Hemostasis in the liver, lungs, and spleen using an infra-red contact coagulator / H. Welter, J. Seifert, G. Nath [et al.] // *Zentralbl Chir.* – 1980. – Vol.105, №2. – P. 94-101.

**322.** Wohlrab, P. Intermittent hypoxia activates duration-dependent protective and injurious mechanisms in mouse lung endothelial cells / P. Wohlrab, L. Soto-Gonzales, T. Benesch [et al.] // *Front Physiol.* – 2018. – Vol.9. – P. 1754. doi: 10.3389/fphys.2018.01754.

- 323.** Yung, L.M. Reactive oxygen species in vascular wall / L.M. Yung, F.P. Leung, X. Yao [et al.] // Cardio-vasc. Hematol. Disord. Drug Targets. – 2006. – Vol.6. – P. 1-19.
- 324.** Zavyalova, E. The evaluation of pharmacodynamics and pharmacokinetics of anti-thrombin DNA Aptamer RA-36 / E. Zavyalova, N. Samoylenkova, A. Revishchin [et al.] // Front Pharmacol. – 2017. – Vol.14, №8. – P. 922. doi: 10.3389/fphar.2017.00922.