

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени
академика Е.И. Чазова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Охота Сергей Денисович

**Адгезия тромбоцитов, опосредованная фактором фон Виллебранда, у
пациентов с ранним развитием ишемической болезни сердца**

3.1.20 – Кардиология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
Козлов Сергей Геннадьевич

Москва – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	4
ВВЕДЕНИЕ.....	6
ГЛАВА 1. ФАКТОР ФОН ВИЛЛЕБРАНДА И ПРЕДПОСЫЛКИ ДЛЯ ЕГО УЧАСТИЯ В РАННЕМ РАЗВИТИИ ИБС	16
1.1. Факторы риска и особенности клинического течения, рано возникшей ИБС.....	16
1.1.1. Факторы риска.....	16
1.1.2. Особенности клинического течения	20
1.2. Структура и функция фактора фон Виллебранда.....	23
1.3. Заболевания, ассоциированные с фактором фон Виллебранда	30
1.4. Диагностические тесты для выявления количественных изменений и дисфункции фактора фон Виллебранда.....	34
1.5. Фактор фон Виллебранда и сердечно-сосудистые заболевания.....	37
1.5.1. Стеноз устья аорты	37
1.5.2. Гипертрофическая кардиомиопатия	40
1.5.3. Вспомогательное устройство левого желудочка.....	40
1.5.4. Ишемическая болезнь сердца.....	41
1.6. Перспективы лечения, направленного на фактор фон Виллебранда и ADAMTS-13, у пациентов с сердечно-сосудистой патологией	50
ГЛАВА 2. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ПАЦИЕНТОВ.....	56
2.1. Измерение адгезии тромбоцитов с помощью микрофлюидного устройства	59
2.2. Методика определения биохимических показателей	63

2.3. Протокол проведения компьютерной томографической ангиографии коронарных артерий.....	64
2.4. Протокол проведения коронароангиографии	65
2.5. Статистическая обработка данных.....	66
ГЛАВА 3. ОЦЕНКА АДГЕЗИИ ТРОМБОЦИТОВ, ОПОСРЕДОВАННОЙ ФАКТОРОМ ФОН ВИЛЛЕБРАНДА, У ПАЦИЕНТОВ С РАННИМ РАЗВИТИЕМ ИБС.....	67
3.1. Влияние блокирования рецепторов GPIIb тромбоцитов на их адгезию к коллагену при повышенной скорости сдвига	67
3.2. Плазменный уровень ФВ.....	83
3.3. Влияние антиагрегантной терапии на ФВ-опосредованную адгезию тромбоцитов при повышенной скорости сдвига	90
3.4. Сравнительный анализ факторов, связанных с рано возникшей ИБС....	94
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	97
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	110
ВЫВОДЫ	110
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	113
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	114

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АД	- артериальное давление
АДФ	- аденозиндифосфат
АСК	- ацетилсалициловая кислота
БВ	- болезнь Виллебранда
СБМ	- сверхбольшие мультимеры
ГКМП	- гипертрофическая кардиомиопатия
ИБС	- ишемическая болезнь сердца
ИМ	- инфаркт миокарда
ИМпST	- инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST
ИМТ	- индекс массы тела
ИФА	- иммуноферментный анализ
КАГ	- коронароангиография
КТА	- компьютерная томографическая ангиография
Лп(а)	- липопротеин(а)
мАт	- моноклональное антитело
ОКС	- острый коронарный синдром
ОНМК	- острое нарушение мозгового кровообращения
ОХС	- общий холестерин
ГХС	- гиперхолестеринемия
СД	- сахарный диабет
ТГ	- триглицериды
ТТП	- тромботическая тромбоцитопеническая пурпура
УА	- устье аорты
ФВ	- фактор фон Виллебранда
ХС ЛВП	- холестерин липопротеидов высокой плотности
ХС ЛНП	- холестерин липопротеидов низкой плотности
ЧКВ	- чрескожное коронарное вмешательство

GP1a/IIa	- гликопротеиновый комплекс тромбоцитов Ia/IIa
GP1b	- гликопротеиновый комплекс тромбоцитов Ib/IX/V
GP1Ib/IIIa	- гликопротеиновый комплекс тромбоцитов IIb/IIIa
GPVI	- гликопротеиновый комплекс тромбоцитов VI
PFA-100	- анализатор функции тромбоцитов-100

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования и степень её разработанности

Вероятность возникновения ишемической болезни сердца (ИБС) увеличивается с возрастом. Однако она может возникать у лиц молодого возраста, а ее первым проявлением часто является инфаркт миокарда (ИМ) [1]. Существующие способы оценки риска возникновения ИБС преимущественно основаны на обнаружении и количественной оценке общепринятых факторов риска ИБС. По данным ряда исследований, у пациентов с ранним развитием ИБС ведущими факторами риска являются курение, повышенные значения общего холестерина (ОХС) и холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС ЛНП), отягощенная наследственность в отношении ИБС, тогда как у пациентов старшего возраста чаще встречается артериальная гипертензия (АГ) и сахарный диабет (СД) [2-4]. Тем не менее возникновение ИБС возможно в отсутствие традиционных факторов риска. В исследованиях было показано, что до 18,3% пациентов с инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST (ИМпST) не имели традиционных модифицируемых факторов риска ИБС. При этом внутрибольничная летальность от всех причин и летальность в течение 30 дней после ИМпST у таких пациентов (особенно у женщин) была выше, по сравнению с пациентами с ИМпST, имеющими ≥ 1 традиционного модифицируемого фактора риска [5, 6]. С другой стороны, наличие даже нескольких факторов риска не всегда приводит к возникновению ИБС. В связи с этим актуальным является проведение исследований, направленных на поиск иных, чем традиционные факторы риска, факторов, наличие которых у пациента будет свидетельствовать о повышенном риске развития ИБС.

В патогенезе ИБС чрезвычайно важную роль играет система гемостаза, в том числе, возникновению ИБС и развитию ее осложнений способствует повышенная склонность к тромбообразованию. В этом процессе активное участие принимает

фактор фон Виллебранда (ФВ). ФВ – белок плазмы, который является связующим звеном между тромбоцитами и субэндотелиальным коллагеном в местах повреждения эндотелия, а также переносчиком фактора свертывания крови VIII (фактор VIII), защищая его от протеолиза и, тем самым, продлевая его период полураспада [7]. В ряде крупных исследований была обнаружена прямая связь между уровнем ФВ и возникновением неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у пациентов с ИБС [8-10]. В том числе, в проспективном исследовании ЕСАТ пациенты со стенокардией, у которых, по данным двухлетнего наблюдения возник ИМ или внезапная сердечная смерть, изначально имели более высокое содержание в крови ФВ, чем пациенты без этих событий [11].

Исследования по оценке связи между уровнем ФВ и ИБС у пациентов с ранним ее развитием немногочисленны и противоречивы. В исследовании van Loon J.E. и соавт. уровень ФВ у пациентов с ранним развитием ИБС не отличался от такового, как у пациентов контрольной группы, и не был связан, по данным восьмилетнего наблюдения, с возникновением смерти от всех причин и повторного ИМ [12]. Ряд других исследований так же не обнаружили связи между уровнем ФВ и ранним развитием ИБС [13-15]. В противоположность этому, опубликованы исследования, в которых уровень ФВ был выше у пациентов с ранним развитием ИБС, в сравнении с пациентами контрольной группы, и являлся дополнительным фактором риска развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий [16, 17].

В подавляющем большинстве исследований, в которых изучалась связь между ИБС и ФВ, проводилось измерение его уровня в плазме крови с помощью иммуноферментного анализа (ИФА). Тем не менее, подобный подход имеет выраженные ограничения. ФВ существует в кровотоке в одной из двух конформаций – глобулярной и развернутой. Конформация ФВ зависит от скорости сдвига в сосудах. При низких скоростях сдвига (например, в венах, где скорости сдвига равны $15-200 \text{ с}^{-1}$, или в крупных артериях, где скорости сдвига равны $300-800 \text{ с}^{-1}$), ФВ остается в глобулярной конформации, который скрывает свои домены для связывания с тромбоцитами. При высоких скоростях сдвига (например, в мелких артериях и артериолах, где скорости сдвига равны $450-1600 \text{ с}^{-1}$, или в

артериях с выраженным стенозированием, где скорости сдвига могут достигать $\geq 11000 \text{ c}^{-1}$) ФВ разворачивается и открывает домены связывания, в частности, с рецептором гликопротеином Ib/IX/V (GPIb) тромбоцитов – единственным рецептором на неактивированных тромбоцитах, взаимодействующим с ФВ [18]. Разворачиваясь, ФВ так же открывает сайты связывания с металлопротеазой ADAMTS-13. Взаимодействие с ней приводит к протеолитическому расщеплению мультимеров ФВ, уменьшая их размер и, тем самым, снижая гемостатическую активность ФВ [19]. ИФА показывает общее содержание в плазме крови всех мультимеров ФВ, от сверхбольших мультимеров (СБМ) до мультимеров, состоящих из нескольких димеров, но не дает представления о том, каково соотношение функционально активных и неактивных форм ФВ. Наряду с этим, можно предположить, что рецепторы тромбоцитов могут по-разному взаимодействовать с ФВ при одинаковом уровне в крови его функционально активных форм. «Золотым» стандартом измерения активности ФВ является ристоцетин-кофакторная активность. При анализе ристоцетин-кофакторной активности используется антибиотик ристоцетин, который индуцирует связывание рецепторов GPIb тромбоцитов с доменом A1 ФВ [20]. Взаимодействие рецепторов GPIb тромбоцитов с ФВ происходит под действием химического агента, что радикально отличается от того, что происходит в человеческом организме.

В институте экспериментальной кардиологии им. ак. В.Н. Смирнова (ИЭК им. ак. В.Н. Смирнова) федерального государственного бюджетного учреждения «Национального медицинского исследовательского центра кардиологии им. академика Е.И. Чазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава России) создано микрофлюидное устройство для регистрации кинетики адгезии клеток крови к белковой поверхности в реальном времени, в условиях контролируемого потока [21, 22]. Устройство состоит из проточной камеры с оптической подложкой с коллагеновым покрытием, перистальтического насоса, обеспечивающего движение крови через проточную камеру, источника лазерного излучения, фотодетектора и аналогово-цифрового преобразователя, подключенного к компьютеру. При включении

устройства цельная кровь движется внутри проточной камеры с заданной скоростью. Величина скорости сдвига при этом является таковой, которая характерна для артерий с умеренным стенозированием их просвета [23]. Форменные элементы крови, в первую очередь тромбоциты, проходя внутри проточной камеры, взаимодействуют с коллагеновым покрытием и адгезируют к нему, вызывая рассеивание лазерного излучения, направленного на оптическую подложку проточной камеры. Рассеивание лазерного излучения нарастает по мере увеличения количества адгезированных клеток на поверхности оптической подложки. Регистрируемое фотодетектором рассеянное лазерное излучение преобразуется в электрическое напряжение и измеряется в милливольтгах (мВ). Нарастание электрического напряжения на выходе фотодетектора отражает увеличение степени адгезии клеток к оптической подложке с коллагеновым покрытием. Степень адгезии тромбоцитов определяют по 15-минутному значению сигнала фотодетектора по окончании 16-минутной циркуляции крови. Запись и обработка регистрируемого фотодетектором изменения интенсивности рассеянного излучения производится с помощью программного обеспечения, которое позволяет представить эти изменения в виде графика. Добавление в цельную кровь моноклональных антител (МАТ) к рецепторам GPIIb тромбоцитов позволяет оценить выраженность изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ. В последнее время использование микрофлюидных устройств для избирательной оценки различных этапов гемостаза в условиях, максимально приближенных к естественным, находит все большее распространение [24, 25]. Однако исследований по оценке адгезии тромбоцитов, опосредованной ФВ, у пациентов с ранним развитием ИБС до сих пор не проводилось.

С учетом участия ФВ в возникновении атеротромбоза, перспективным представляется разработка препаратов, блокирующих его взаимодействие с сосудистой стенкой и/или тромбоцитами, с последующим использованием этих препаратов в профилактике ИБС [26]. Большинство препаратов, препятствующих возникновению атеротромбоза и используемых в первичной и вторичной

профилактике ИБС, не влияют на ФВ. В последнее время появляются исследования по изучению препаратов, которые напрямую или опосредованно нарушают взаимодействие ФВ с тромбоцитами или эндотелиальным коллагеном [27-29]. Однако эти препараты либо находятся на стадии разработки, либо не зарегистрированы в РФ. Исследования по оценке влияния антиагрегантной терапии на адгезию тромбоцитов опосредованной ФВ в условиях, приближенных к естественным, ранее не проводились.

Цель исследования

Изучение адгезии тромбоцитов, опосредованной фактором фон Виллебранда, у пациентов с ранним развитием ишемической болезни сердца.

Задачи исследования

1. Сопоставить влияние блокирования взаимодействия рецепторов гликопротеинов Ib с фактором фон Виллебранда на адгезию тромбоцитов у пациентов с ранним развитием ишемической болезни сердца и у пациентов без ишемической болезни сердца.
2. Исследовать связь между уровнем фактора фон Виллебранда в крови и адгезией тромбоцитов, опосредованной взаимодействием рецепторов гликопротеинов Ib с фактором фон Виллебранда.
3. Изучить влияние антиагрегантной терапии на адгезию тромбоцитов, опосредованную взаимодействием рецепторов гликопротеинов Ib тромбоцитов с фактором фон Виллебранда.
4. Провести сравнительный анализ факторов, связанных с ранним возникновением ишемической болезни сердца.

Научная новизна

Впервые изучено влияние блокирования рецепторов GPIIb при повышенной скорости сдвига на адгезию тромбоцитов к коллагену в условиях, приближенных к естественным, у пациентов с ранним развитием ИБС и у пациентов без ИБС. Полученные данные свидетельствуют о том, что у пациентов с ранним развитием ИБС выраженность изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ в 2,6 раза больше, чем у пациентов без ИБС.

Впервые оценена связь между уровнем ФВ в крови и ФВ-опосредованной адгезией тромбоцитов к коллагену у пациентов с ранним развитием ИБС. Уровень ФВ в крови не влияет на адгезию тромбоцитов, опосредованную взаимодействием рецепторов GPIIb тромбоцитов с ФВ.

Впервые изучено влияние антиагрегантной терапии на адгезию тромбоцитов к коллагену в условиях, приближенных к естественным, у пациентов с ранним развитием ИБС и у пациентов без ИБС. Полученные данные свидетельствуют о том, что исходная адгезия тромбоцитов и адгезия тромбоцитов после блокирования GPIIb тромбоцитов у пациентов с ранним развитием ИБС, принимающих клопидогрел или комбинацию ацетилсалициловой кислоты (АСК) с ингибитором P2Y₁₂ (клопидогрел или тикагрелор) меньше, чем у пациентов с ранним развитием ИБС, принимающих АСК. Режим антиагрегантной терапии (АСК, клопидогрел или комбинация АСК с ингибитором P2Y₁₂ - клопидогрелом или тикагрелором) не влияет на опосредованную GPIIb адгезию тромбоцитов.

Впервые проведен сравнительный анализ факторов, связанных с ранним возникновением ИБС. С поправкой на факторы риска, выраженность изменения адгезии тромбоцитов $\geq 45\%$ после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ увеличивает вероятность выявления ИБС у мужчин в возрасте до 55 лет и у женщин в возрасте до 65 лет (ОШ 6,3; 95% ДИ 2,4-16,2; $p < 0,001$). Из факторов риска независимо были связаны с повышенной вероятностью выявления рано

возникшей ИБС: злостное курение (ОШ 6,1; 95% ДИ 1,4-25,4; $p = 0,01$), мужской пол (ОШ 3,4; 95% ДИ 1,2-10; $p = 0,02$) и возраст (ОШ 1,1; 95% ДИ 1-1,14; $p = 0,02$).

Практическая значимость

Продемонстрирована возможность использования оригинального микрофлюидного устройства для исследования адгезии тромбоцитов к коллагену, опосредованной взаимодействием рецепторов GPIb тромбоцитов с ФВ, у пациентов с ИБС с целью оценки начального этапа тромбообразования. Показана связь между рано развившейся ИБС и выраженностью взаимодействия ФВ с рецепторами GPIb тромбоцитов при умеренном повышении скорости сдвига. С учетом результатов настоящего исследования, перспективным представляется использование оригинального микрофлюидного устройства для изучения препаратов, блокирующих взаимодействие ФВ с сосудистой стенкой и/или тромбоцитами.

Методология и методы исследования

В исследование было включено 84 пациента со стабильной ИБС (62 мужчины в возрасте до 55 лет с манифестацией ИБС до 50 лет и 22 женщины в возрасте до 65 лет с манифестацией ИБС до 60 лет), у которых при коронароангиографии (КАГ) было выявлено поражение коронарных артерий, приводящее к уменьшению на 50% и больше диаметра просвета ствола левой коронарной артерии и/или магистральной коронарной артерии (передней нисходящей, огибающей, правой) и/или ветви второго порядка диаметром более 2 мм. В контрольную группу вошли 64 пациента (26 мужчин в возрасте до 55 лет и 38 женщин в возрасте до 65 лет), не имеющих типичных клинических проявлений ИБС, у которых не было выявлено стенозирующего коронарного атеросклероза при КАГ и/или компьютерной томографической ангиографии (КТА) коронарных артерий. Проведено сравнение уровня ФВ в плазме крови в зависимости от факторов риска ИБС, группы крови и

режима антиагрегантной терапии. С помощью оригинального микрофлюидного устройства проводилось измерение адгезии тромбоцитов к коллагену в реальном времени в условиях повышенной скорости сдвига. Блокирование рецепторов GPIIb с помощью мАт позволяло оценить выраженность изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ. Результаты измерений сопоставляли у пациентов с ИБС и без этого заболевания. Определяли зависимость адгезии тромбоцитов от факторов риска ИБС, уровня ФВ и режима антиагрегантной терапии. С помощью ROC-анализа определялось отрезное значение выраженности изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ в прогнозировании наличия рано возникшей ИБС.

Положения, выносимые на защиту

1. Блокирование рецепторов GPIIb тромбоцитов у пациентов с ранним развитием ИБС приводит в 2,6 раза большему, чем у пациентов без ИБС, снижению выраженности адгезии тромбоцитов к коллагену в условиях повышенной скорости сдвига.
2. Уровень ФВ не влияет на адгезию тромбоцитов, опосредованную взаимодействием рецепторов GPIIb с ФВ.
3. Адгезия тромбоцитов у пациентов с ранним развитием ИБС, принимающих клопидогрел или комбинацию АСК с ингибитором P2Y₁₂ (клопидогрел или тикагрелор) меньше, чем у пациентов с ранним развитием ИБС, принимающих АСК. Режим антиагрегантной терапии (АСК, клопидогрел или комбинация АСК с ингибитором P2Y₁₂ - клопидогрелом или тикагрелором) не влияет на опосредованную GPIIb адгезию тромбоцитов.
4. У мужчин в возрасте до 55 лет и у женщин в возрасте до 65 лет выраженность изменения адгезии тромбоцитов $\geq 45\%$ после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ вне зависимости от факторов риска связана с повышенной вероятностью выявления ИБС (ОШ 6,3; 95% ДИ 2,4-16,2; $p < 0,001$). Из основных

факторов риска ИБС с повышенной вероятностью выявления ИБС у мужчин в возрасте до 55 лет и у женщин в возрасте до 65 лет независимо связаны: злостное курение (ОШ 6,1; 95% ДИ 1,7-25,4; $p = 0,01$), мужской пол (ОШ 3,4; 95% ДИ 1,2-10; $p = 0,02$) и возраст (ОШ 1,1; 95% ДИ 1-1,14; $p = 0,02$).

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов определяется достаточным количеством исследуемого материала, проведением тщательного анализа и статистической обработки полученных данных. Сформулированные в диссертации выводы, положения и рекомендации аргументированы и логически вытекают из системного анализа результатов выполненных исследований. Материалы диссертации были доложены на межотделенческой конференции по апробации кандидатских диссертаций института клинической кардиологии им. А.Л. Мясникова (ИКК им. А.Л. Мясникова) ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава России 19 мая 2023 года, протокол №99. Результаты диссертации были доложены на: 88-м конгрессе Европейского общества атеросклероза (4-7 октября 2020 года), Ежегодной Всероссийской научно-практической конференции и 62-ей сессии ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава России, Кардиология на марше 2022 (7-9 июня 2022 года).

Личный вклад автора

Автор данного исследования осуществлял отбор пациентов в соответствии с заданными критериями включения и исключения, проводил опрос пациентов и анализировал медицинскую документацию, заполнял базу данных. Проводил эксперименты с цельной кровью по изучению адгезии тромбоцитов с помощью микрофлюидного устройства. Осуществлял статистическую обработку полученных данных, проводил анализ и оформление результатов в виде научных публикаций и докладов.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 9 научных работ, из них 2 в журналах, рекомендованных ВАК, 5 в журналах, рецензируемых Scopus.

Структура и объем диссертации

Материалы диссертации изложены на 140 страницах машинописного текста и состоят из введения, обзора литературы, клинической характеристики и методов исследования больных, результатов исследования и их обсуждения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включившего в себя 255 источника. Материалы иллюстрированы 7 таблицами и 21 рисунком.

ГЛАВА 1. ФАКТОР ФОН ВИЛЛЕБРАНДА И ПРЕДПОСЫЛКИ ДЛЯ ЕГО УЧАСТИЯ В РАННЕМ РАЗВИТИИ ИБС

1.1. Факторы риска и особенности клинического течения, рано возникшей ИБС

Согласно общепринятым рекомендациям, к рано развившейся ИБС относят ИБС, возникшую в возрасте до 55 лет у мужчин или до 65 лет у женщин [30-33]. Большое число исследований, посвященных поиску причин раннего возникновения ИБС, связано с оценкой влияния традиционных факторов риска на ее развитие.

1.1.1. Факторы риска

Согласно результатам проведенных исследований, пациенты с ранним развитием ИБС чаще являются мужчинами [2, 4, 34-37]. В том числе, в исследовании Schoenenberger A.W. и соавт. мужской пол имели 85,1% пациентов с острым коронарным синдромом (ОКС) в возрасте <45 лет, тогда как пациенты >45 лет были мужчинами в 72,3% случаев [38]. В исследовании Fournier J.A. и соавт. доля мужчин у которых развился ИМ в возрасте <40 лет значительно превалировала и составила 94,5% [39]. В регистре медицинского центра университета Мичигана 75% пациентов с ИМ в возрасте <45 лет были мужчинами [40].

Пациенты с ранним развитием ИБС часто имеют неблагоприятную наследственность в отношении ИБС [40]. В исследовании Schoenenberger A.W. и соавт. неблагоприятная наследственность в отношении ИБС у пациентов <35 лет с ОКС имела место в 55% случаев, тогда как у пациентов с ОКС >35 лет – в 34,4% случаев [38]. Пациенты с ОКС <55 лет в исследовании Qureshi W.T. и соавт. имели неблагоприятную наследственность в отношении ИБС в 54,3% случаев, тогда как пациенты с ОКС >55 лет – в 40,3% случаев [2]. Другие исследования показали, что у пациентов с ранним развитием ИБС неблагоприятная наследственность в

отношении ИБС встречается в 20-56% случаев и является одним из самых распространённых факторов риска [34-37, 41].

Одним из ведущих факторов риска развития ИМ у лиц молодого возраста является курение [2, 4, 35, 36, 38, 40, 42, 43]. Доля курильщиков в группе пациентов с ИМ <45 лет составила 83,6%, по данным исследования PRIAMHO II, тогда как пациенты с ИМ >45 лет являлись курильщиками в 41% случаев [3]. В исследовании Rallidis L.S. и соавт. частота курения в группе пациентов <35 лет с ИМпСТ равнялась 92,5%, что было значительно выше, по сравнению с контрольной группой аналогичного возраста без сердечно-сосудистых заболеваний, где частота курения составила 44,9% [44]. Среди пациентов с ИМпСТ в возрасте 18-34 лет в исследовании Larsen G.K. и соавт. доля курильщиков составила 78%, что было выше в сравнении с населением этого возраста, где количество курящих равнялось 23,7% [45]. В проспективное исследование Collet J.P. и соавт. вошли 880 пациентов с ранним развитием ИБС, со стабильной ИБС со стенозирующим поражением коронарной артерии >70% или перенесших ИМ. Продолжительность наблюдения равнялась 20 годам. Согласно многофакторному анализу (регрессионной модели Кокса), постоянное курение наиболее выражено было связано (ОР 2,32, 95% ДИ 1,63-3,28) с возникновением неблагоприятных событий - смерти от всех причин, ИМ, рефрактерной стенокардией, требующей реваскуляризации коронарных артерий, ОНМК по ишемическому типу [34]. В проспективном исследовании Cole J.H. и соавт. одним из самых сильных предикторов смертельных исходов, по данным 15-летнего наблюдения, было активное употребление табака (ОР 1,59, 95% ДИ 1,14-2,21) [46].

Одним из ведущих факторов риска раннего развития ИБС являются высокие значения ОХС и ХС ЛНП [2, 4, 36-38, 42, 47-50]. В исследованиях было показано, что у пациентов с ранним развитием ИБС уровень ОХС и ХС ЛНП выше, чем у пациентов без ИБС аналогичного возраста и у пациентов с ИБС старших возрастных категорий [44, 51-54]. В том числе, в исследовании Doughty M. и соавт. у пациентов с ИМ <45 лет уровень ОХС составил 5,1 ммоль/л, тогда как у пациентов с ИМ >55 лет – 4,6 ммоль/л. Среднее значение ХС ЛНП у пациентов с

ИМ <45 лет равнялось 3,4 ммоль/л, тогда как у пациентов с ИМ >55 лет – 2,8 ммоль/л [40]. Исследования, где сравнивали уровень холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС ЛВП) у пациентов с ранним развитием ИБС и у пациентов аналогичного возраста без ИБС, показали, что уровень ХС ЛВП либо был выше у пациентов, не имевших ИБС [44, 54], либо не отличался у обеих категорий пациентов [51, 53].

О влиянии повышенного уровня холестерина на раннее возникновение ИБС свидетельствуют результаты исследований у пациентов с семейной гиперхолестеринемией (ГХС). В регистре, в который вошли 1996 пациентов, перенесших ИМ в возрасте до 50 лет, 9% пациентов имели вероятный или определенный диагноз семейной ГХС [55]. В исследовании Li S. и соавт. из 1093 пациентов с ИМ, возникшем в возрасте до 35 лет, семейную ГХС имели 6,5% пациентов [56]. В ряде других исследований у пациентов с ранним развитием ИБС семейная ГХС встречалась в 8-8,9% случаев [57, 58].

К факторам, способствующим раннему развитию ИБС, относят уровень липопротеина (а) [Лп(а)] >50 мг/дл [59-61]. В исследовании GENESIS-PRAXY сравнили уровень Лп(а) у 939 пациентов с ОКС в возрасте до 55 лет (в среднем 49 лет) и у 5543 участников без ОКС, средний возраст которых равнялся 55 годам. Значения Лп(а) >50 мг/дл встречались у пациентов с ОКС в 31% случаев, у пациентов без ОКС – в 20% случаев [62]. Средние значения Лп(а) у пациентов с ОКС до 35 лет были выше, чем у здоровых людей аналогичного возраста в исследовании Chandra S. и соавт., и равнялись, соответственно, $47,19 \pm 29,85$ нмоль/л и $28,10 \pm 13,96$ нмоль/л [63]. В исследовании Rallidis L.S. и соавт. было включено 1457 пациентов (86% мужчин) с ОКС в анамнезе (средний возраст 54,8 лет) и 2090 здоровых добровольцев аналогичного возраста и пола, включенных в базу данных АТТІСА. Повышение Лп(а) >50 мг/дл у пациентов с ОКС <45 лет после поправки на традиционные факторы риска увеличивало вероятность развития ОКС почти в 3 раза (ОШ 2,88; 95% ДИ 1,7-4,6), тогда как у пациентов >60 лет вероятность развития ОКС повышалась только на 30% (ОШ 1,31; 95% ДИ 0,8-2,4) [64].

Распространенность АГ и СД увеличивается с возрастом, и они встречается реже у пациентов с ранним развитием ИБС, чем у пациентов с ИБС старшего возраста [2, 4, 35, 37, 41, 47, 49, 65-67]. В исследовании Chan M. Y. и соавт. был включен 231 пациент с ИМ в возрасте <45 лет и 1325 пациентов с ИМ >45 лет. АГ встречалась в 39,5% случаев у пациентов <45 лет, тогда как у пациентов >45 лет – в 58,4% случаев, СД обнаруживали у 21,7% пациентов <45 лет и у 38,3% пациентов >45 лет [49]. При этом АГ и СД встречаются чаще у пациентов с ранним развитием ИБС, чем у пациентов аналогичного возраста без ИБС [36, 51, 53]. В исследовании Wiesbauer F. и соавт. у пациентов с ИМ <40 лет АГ обнаруживали в 43% случаев, у пациентов <40 лет контрольной группы – в 18% случаев, СД – в 27% и 12,5% случаев, соответственно [54].

Ожирение у пациентов с ранним развитием ИБС встречается гораздо реже, чем другие факторы риска [4, 42, 50]. Однако пациенты, имеющие индекс массы тела (ИМТ) более 25 кг/м², чаще встречаются среди пациентов с ранним развитием ИБС, в сравнении с пациентами с ИБС старшего возраста [35, 43, 52] и с пациентами аналогичного возраста без ИБС [36, 54]. В том числе, в исследовании Goliasch G. и соавт. ИМТ был равен 27,8 кг/м² у пациентов с ИМ <40 лет, что было выше, чем у пациентов <40 лет контрольной группы, где ИМТ был равен 24,6 кг/м² [53].

Наряду с традиционными факторами риска, раннему возникновению ИБС могут так же способствовать иные факторы. Одним из таких факторов является повышенная склонность к тромбообразованию. Сообщается о наличии связи между ранним возникновением ИБС и антифосфолипидным синдромом [68, 69]. Согласно мета-анализу результатов исследований, в которые вошли 153 пациента с тромботической тромбоцитопенической пурпурой (ТТП) и ИМ, их средний возраст составил 45 [43; 59] лет [70].

Риск раннего возникновения ИБС независимо от других факторов риска увеличивает употребление кокаина (ОШ 2,44; 95% ДИ 2,38-2,5), амфетамина (ОШ 2,74, 95% ДИ 2,62-2,87), каннабиса (ОШ 2,65; 95% ДИ 2,59-2,71) и других наркотиков (ОШ 2,53; 95% ДИ 2,47-2,59) [71].

1.1.2. Особенности клинического течения

Первым клиническим проявлением ИБС у пациентов с ее ранним развитием часто бывает ИМ [35, 72]. В исследовании Collet J.P. и соавт. первым проявлением ИБС у пациентов в возрасте <45 лет ИМ был в 78,8% случаев [34]. ИМпST у пациентов с ранним развитием ИБС встречается чаще, чем ИМ без подъема сегмента ST или нестабильная стенокардия [2, 4, 43, 51, 52, 65, 66]. ИМпST чаще случается в возрасте до 35 лет (50,2%), чем в возрасте 35-45 лет (38,8%) или 45-50 лет (36,7%), по результатам исследования Zeitouni M. и соавт. [35].

В ряде исследований была оценена частота возникновения неблагоприятных событий у пациентов с ранним развитием ИБС. В проспективное исследование Zeitouni M. и соавт. вошли 3655 пациентов с ИБС в возрасте <50 лет. Продолжительность наблюдения составила 10 лет. У 52,9% пациентов развилось хотя бы одно неблагоприятное сердечно-сосудистое событие. Смерть по любой причине возникла в 13,4% случаев, ИМ – в 14,4% случаев, ЧКВ было выполнено у 15,3% пациентов, коронарное шунтирование – у 6,3% пациентов. Острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК) по ишемическому типу возникло у 3,5% пациентов [35]. В исследовании Morillas P. и соавт., в которое вошли пациенты с ИМ, смерть от всех причин через 28 дней после его развития возникла у 3,7% пациентов в возрасте <45 лет и у 11,9% пациентов в возрасте >45 лет. Авторы предложили, что возраст <45 лет был независимым «защитным» фактором (ОР 0,41, 95% ДИ 0,23-0,73) [3]. В исследовании Zimmerman F.H. и соавт. оценивали выживаемость после перенесенного ИМ у молодых пациентов (у мужчин <35 лет и у женщин <45 лет) и у пациентов более старшего возраста (мужчин >35 лет и у женщин >45 лет). По данным семилетнего наблюдения, выживаемость у более молодых мужчин равнялась 84%, тогда как у мужчин старшего возраста – 75%. У более молодых женщин выживаемость равнялась 90%, у женщин более старшего возраста – 77% [73]. Ряд других исследований показал, что в течение 5-8 лет летальность пациентов с ранним возникновением ИБС составляет 3,4-7,7% [4, 34, 36, 39, 44]. Частота возникновения неблагоприятных

сердечно-сосудистых событий (развитие сердечной недостаточности, кардиогенного шока, внезапная остановка сердца и отек легких) меньше у пациентов с ранним развитием ИБС, в сравнении с пациентами с ИБС старшего возраста [40].

Согласно исследованию Fournier J.A. и соавт., ведущими причинами смерти молодых пациентов с ИБС являются сердечная недостаточность и злокачественные нарушения ритма сердца. Снижение фракции выброса левого желудочка $\leq 45\%$ ассоциировалось почти с 5-ти кратным (ОШ 4,4; 95% ДИ 1,6-12,4) увеличением смертельных исходов [72]. Наблюдение за 823 пациентами с ИБС в возрасте < 40 лет показало, что 15-летняя выживаемость у пациентов с нормальной фракцией выброса левого желудочка составила 69%, тогда как наличие СД и снижение фракции выброса левого желудочка $\leq 30\%$ у таких пациентов уменьшало выживаемость до 35% и 17%, соответственно [46].

В исследовании Qureshi W.T. и соавт. у пациентов с ОКС в возрасте < 55 лет, в сравнении с пациентами с ОКС > 55 лет, чаще, по данным КАГ, наблюдалось однососудистое поражение коронарных артерий, соответственно, в 39,2% и 31,9% случаев [2]. По результатам исследования AMIS Plus, у пациентов с ИмпСТ < 35 лет, в сравнении с пациентами > 35 лет, чаще встречалось однососудистое поражение, соответственно в 75% и 38,6% случаев [38]. Другие исследования так же показывают, что пациенты с ранним развитием ИБС чаще, по сравнению с возрастными пациентами, имеют однососудистое поражение коронарных артерий. При этом чаще обнаруживают поражение передней нисходящей артерии – в 61,6-67% случаев [4, 35, 36, 44].

По данным исследования CASS, у молодых пациентов (у мужчин до 35 лет и у женщин до 45 лет) с перенесенным ИМ, в сравнении с пациентами более старшего возраста (мужчинами старше 35 лет и женщинами старше 45 лет), чаще встречаются нормальные коронарные артерии и гемодинамически незначимое поражение коронарных артерий, соответственно, у 21,8% и 5,3% мужчин, а также у 34,3% и 17,9% женщин [73]. В исследовании STAMINA вошли 327 пациентов с ИмпСТ в возрасте < 35 лет. У 18,3% пациентов были нормальные коронарные

артерии или стенозы, суживающие просвет артерии менее, чем на 30% [44]. В регистре медицинского центра катетеризации сердца университета Массачусетса у пациентов с ОКС <55 лет гемодинамически незначимое поражение коронарных артерий встречается чаще, чем у пациентов с ОКС >55 лет – у 31,9% и 20,1% пациентов, соответственно [2]. По результатам других исследований, пациенты с ранним развитием ИБС имеют нормальные коронарные артерии или их гемодинамически незначимое поражение в 16,9-20% случаев [39, 74, 75].

1.2. Структура и функция фактора фон Виллебранда

Фактор фон Виллебранда – один из компонентов системы гемостаза. При высоких скоростях сдвига, таких как в артериях малого диаметра и в местах их выраженного стенозирования, ФВ играет ключевую роль в адгезии тромбоцитов к субэндотелию при нарушении целостности эндотелиального слоя. При повреждении эндотелия ФВ связывается с обнажившимся коллагеном, приобретает вытянутую форму, что позволяет сайтам связывания в доменах А1 ФВ взаимодействовать с рецепторами тромбоцитов GPIIb, обуславливая их адгезию к субэндотелию [76, 77]. Наряду с участием в адгезии тромбоцитов, ФВ связывается с фактором VIII, тем самым, защищая его от протеолиза и транспортируя в крови. Вне связи с ФВ фактор VIII нестабилен и быстро разрушается [7].

ФВ является крупным, сложным, мультимерным белком, состоящим из различного количества димеров. Димеры с молекулярной массой около 500 кДа составляют базовую повторяющуюся структуру ФВ. Они полимеризуются в СБМ. В мультимерах находится от 20 до 100 димеров [78, 79]. Чем больше димеров находится в мультимере ФВ, тем более гемостатически он активен. Менее крупные мультимеры являются в основном переносчиками фактора VIII, в то время как СБМ участвуют в адгезии [79].

Молекула ФВ содержит домены – участки белка, выполняющие какую-либо его функцию, которые расположены в следующей последовательности: D1, D2, D', D3; A1, A2, A3; D4; C1, C2, C3, C4, C5, C6 и С-концевой цистеиновый узел (рис. 1а и 1б) [18]. Каждый из доменов имеет участки (или сайты связывания), которые специфично связываются с другой молекулой. В том числе, в доменах А1 в основном содержатся сайты связывания с GPIIb тромбоцитов – единственным рецептором на неактивированном тромбоците со значительным сродством к ФВ, а также сайты связывания с коллагенами типов I, IV, VI и гепарином [26]. Домены А2 имеют сайты связывания с металлопротеазой ADAMTS-13. Основные сайты связывания с коллагеном типов I и III находятся в доменах А3. Домен С4 имеет

сайты, которые связываются с гликопротеиновыми комплексами IIb/IIIa (GPIIb/IIIa) активированных тромбоцитов. Домены С обеспечивают гибкость молекулы ФВ. Домены D'D3 имеют сайты связывания с фактором VIII. С-концевой цистеиновый узел участвует в образовании димеров. Все D домены участвуют в образовании дисульфидных связей между димерами [18, 19, 80].

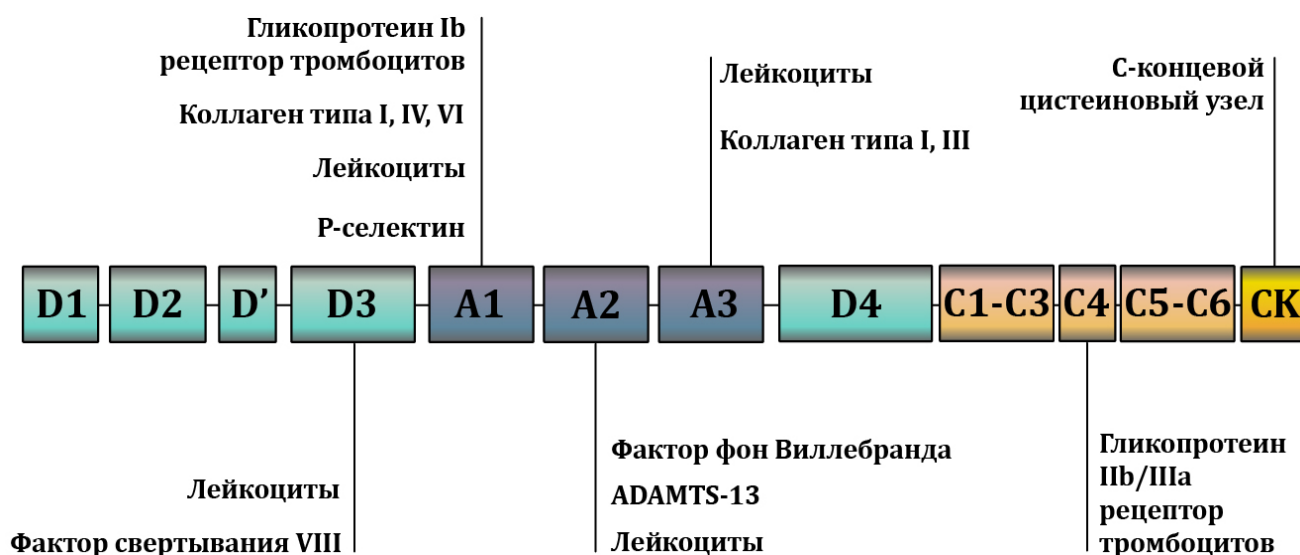


Рис. 1а. Схематическое изображение мономерной структуры фактора фон Виллебранда и сайты связывания в различных доменах. Рисунок заимствован у Охота С.Д. и соавт. [26].

ФВ в основном продуцируется в эндотелиальных клетках и хранится, наряду с Р-селектином, в виде плотно упакованных мультимеров в эндотелиальных органеллах – тельцах Вейбеля-Паладе. Некоторое количество ФВ продуцируется в мегакариоцитах. В процессе отшнуровки зрелых тромбоцитов от мегакариоцитов ФВ остается внутри тромбоцитов, где хранится в альфа-гранулах [80, 81]. ФВ постоянно выделяется в кровоток (базальная секреция) из телец Вейбеля-Паладе неактивированных эндотелиальных клеток. Период полураспада ФВ составляет от 4,2 до 26 часов [82]. При активации эндотелия (например, адреналином) происходит регулируемая секреция ФВ [83].

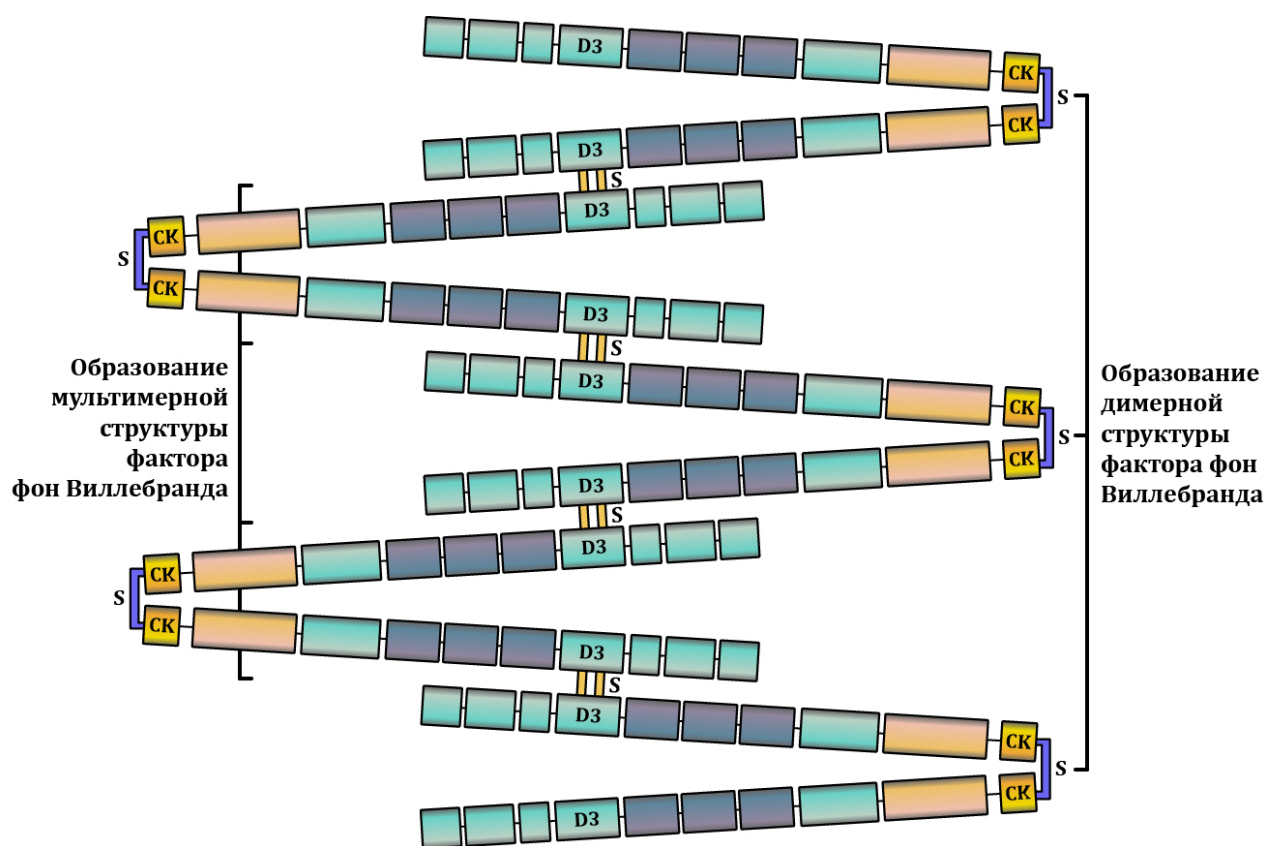


Рис. 16. Схематическое изображение мультимерной структуры фактора фон Виллебранда. Рисунок заимствован у Охота С.Д. и соавт. [26].

В кровотоке ФВ находится в одной из двух конформаций – глобулярной (неактивной) и развернутой (активной) [84, 85]. Конформация ФВ зависит от скорости сдвига кровотока в сосудах. Кровь является неоднородной жидкостью, для которой характерно возникновение сил внутреннего трения при ее течении. Наличие подобных сил приводит к тому, что различные слои крови движутся с различными скоростями. При этом скорость потока в центре сосуда выше, чем у его стенок. Величина различий в скоростях движения соседних слоев жидкости количественно характеризуется скоростью сдвига, которая измеряется в обратных секундах (с^{-1}) [26]. При низкой скорости сдвига (например, в венах, где скорость сдвига составляет $15\text{-}200 \text{ с}^{-1}$, или в крупных артериях, где скорость сдвига равна $300\text{-}800 \text{ с}^{-1}$) ФВ остается в глобулярной форме [23, 86]. При высокой скорости сдвига (например, в неповрежденных мелких артериях и артериолах, где скорость сдвига составляет $450\text{-}1600 \text{ с}^{-1}$, а также в местах стенозирования артерий, где

скорость сдвига может достигать 11000 с^{-1} и выше) ФВ разворачивается и открывает свои домены для связывания, в частности, с GPIb тромбоцитов (рис. 2) [23, 80]. В нестенозированных артериях пороговое значение скорости сдвига, необходимое для изменения глобулярной конформации ФВ на развернутую, приблизительно равно $\approx 1000 \text{ с}^{-1}$ (в таком состоянии домен A1 ФВ способен связываться с GPIb с низкой аффинностью), тогда как активация ФВ происходит при скорости сдвига $\approx 5000 \text{ с}^{-1}$, переводя домен A1 в состояние с высокой аффинностью к GPIb тромбоцитов [84, 87-90]. На продолжительность существования комплекса "A1-GPIb" влияют изменения конформации мультимера ФВ, исходная плотность рецепторов GPIb, лекарственные средства, наличие полиморфизма генов и даже группа крови [91].

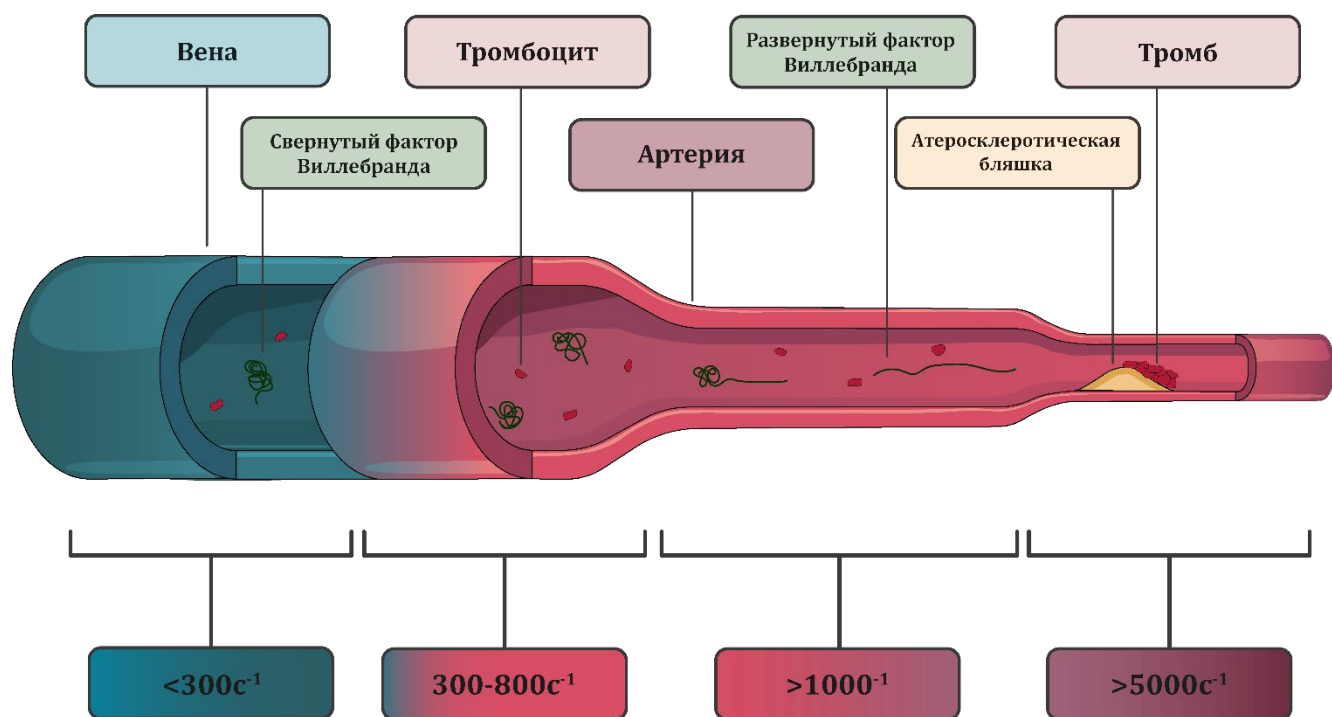


Рис. 2. Схематическое изображение изменение скоростей сдвига в венах и артериях.

Скорость сдвига в сосудах изменяется с изменением их диаметра. Скорость сдвига в сосуде с меньшим диаметром выше, чем в сосуде с большим диаметром. При постепенном уменьшении диаметра скорость сдвига и, соответственно, силы,

вызывающие развертывание ФВ, будут увеличиваться равномерно. Резкое сужение сосуда, из-за наличия в нем атеросклеротической бляшки, приводит к локальному, выраженному повышению скорости сдвига. В результате этого ФВ подвергается конформационным изменениям и разворачивается [92]. Для изменения конформации ФВ в месте атеросклеротической бляшки требуется скорость сдвига в два раза меньше, чем в неизменном сосуде [93]. В исследовании *in vitro*, скорости сдвига, требующиеся для образования тромба в месте стеноза, составляли от 600 до 2000 с^{-1} [94]. Скорости сдвига увеличиваются по мере приближения к атеросклеротической бляшке и снижаются по мере приближения к ее дистальной границе, где чаще всего наблюдается тромбообразование (рис. 3) [95, 96].

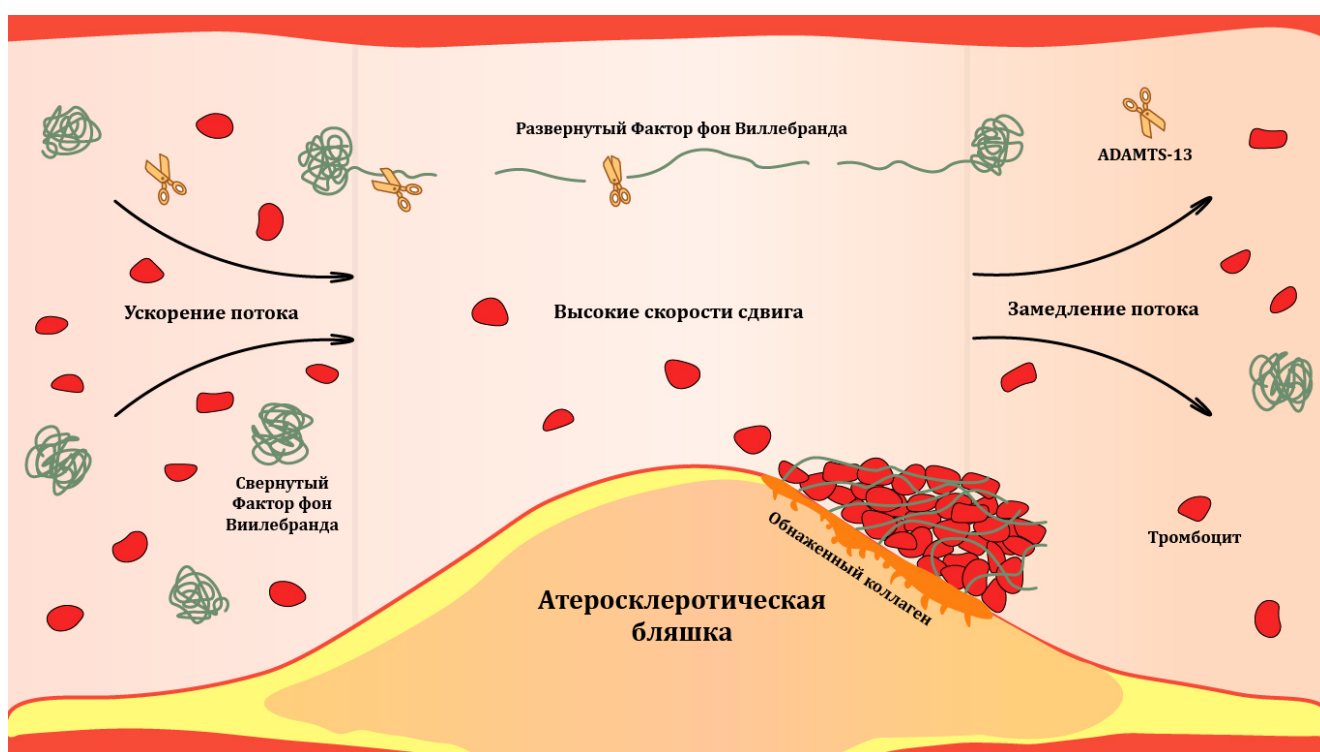


Рис. 3. Зависимая от скорости сдвига активация фактора фон Виллебранда в месте атеросклеротического сужения сосуда. Рисунок заимствован у Охота С.Д. и соавт. [26].

Образующиеся при высокой скорости сдвига нити ФВ могут формировать сложные сетчатые структуры, которые осуществляют захват и увеличивают количество тромбоцитов, участвующих в адгезии. Способность развернутого ФВ к образованию сложных структур при высокой скорости сдвига изучалась *in vitro* в

работе Zheng Y. и соавт. [97]. Малый диаметр сосудов, их извитость, бифуркации, высокоскоростные потоки предрасполагали к образованию сетчатых структур. На участках с низкими скоростями сдвига ФВ оставался в глобулярной конформации, а нити ФВ не были видны [97]. О формировании при высокой скорости сдвига сети, подобной паутине, из образующихся при развертывании ФВ нитей сообщают Schneider S.W. и соавт. [84]. Zhang C. и соавт. показали, что в образовании сетчатых структур из нитей ФВ при скорости сдвига 9600 c^{-1} участвует домен A2. Таким образом, домен A2 играет важную роль не только в протеолизе мультимера ФВ, но и в образовании сетчатых структур [98].

До 20% ФВ выделяется альфа-гранулами активированных тромбоцитов [83, 99]. ФВ, содержащийся в тромбоцитах, преимущественно СБМ ФВ, который высвобождается в высоких концентрациях в местах повреждения сосудов после активации тромбоцитов [100]. Роль тромбоцитарного ФВ в гемостазе до конца не установлена, а исследования, касающиеся данного вопроса, немногочисленны. Исследование на мышах, у которых отсутствовал тромбоцитарный ФВ, показало, что после трансплантации им костного мозга появление тромбоцитов, содержащих ФВ, привело к частичной коррекции времени кровотечения [101]. В другом исследовании мыши с наличием только тромбоцитарного ФВ имели время кровотечения сравнимое с таковым, как у мышей с полным отсутствием ФВ. Однако у мышей только с тромбоцитарным ФВ размер ишемического инфаркта головного мозга был больше, чем у мышей, у которых ФВ отсутствовал [102]. В исследовании Kim D.A. и соавт. мышам без тромбоцитарного ФВ и здоровым мышам осуществили посредством перевязки сонной артерии ее стенозирование и деэндотелизацию стенозированного участка. У мышей с нормальным уровнем ФВ в плазме крови, но лишенных тромбоцитарного ФВ, в отличие от здоровых мышей не развивался окклюзирующий тромбоз сонных артерий [103].

Разворачиваясь, ФВ открывает сайты связывания с ADAMTS-13 в домене A2. Взаимодействие с ADAMTS-13 приводит к протеолитическому расщеплению связи между тиронином в 1605 положении и метионином в 1606 положении, уменьшая мультимерную структуру ФВ и снижая его гемостатическую активность

[86, 104, 105]. ADAMTS-13 был впервые выделен в 2001 г., хотя наличие Ca^{2+} -зависимой протеазы, расщепляющей ФВ, было предсказано значительно раньше [106]. Синтезируется человеческий ADAMTS-13 исключительно в звездчатых клетках печени [107]. Плазменный уровень ADAMTS-13 коррелирует по принципу отрицательной обратной связи с уровнем ФВ [108]. У пациентов с болезнью Виллебранда (БВ) 3 типа, у которых ФВ отсутствует в крови, плазменный уровень ADAMTS-13 был на 35% больше, в сравнении со здоровыми добровольцами. После введения им аналога вазопрессина – десмопрессина, являющегося одним из стимуляторов высвобождения ФВ из телец Вейбеля-Паладе, уровень ADAMTS-13 в плазме снизился на 20% [108]. Отрицательная корреляция, вероятно, возникает из-за расходования ADAMTS-13 при расщеплении ФВ. ADAMTS-13 циркулирует в кровотоке в качестве активного фермента, однако, ФВ в глобулярной конформации остается устойчивым и не подвергается протеолизу.

Наряду с участием в адгезии тромбоцитов, ФВ является переносчиком в кровотоке фактора VIII, участвующего во внутреннем пути свертывания крови, взаимодействуя с фактором IXa в качестве кофактора с образованием внутренней теназы (ферментный комплекс, который превращает неактивный фактор X в активный фактор Xa). Дефицит фактора VIII приводит к гемофилии А. В отсутствие связи с ФВ фактор VIII нестабилен и быстро разрушается. ФВ, находясь в глобулярной форме, продлевает период полураспада фактора VIII, защищая его от протеолитической деградаци и, в конечном итоге, доставляя его к участкам сосудистых повреждений [7].

1.3. Заболевания, ассоциированные с фактором фон Виллебранда

Дефицит или дисфункция ФВ предрасполагают к кровотечениям. Врожденное состояние, обусловленное количественным дефицитом ФВ и/или качественными изменениями его структуры, называют болезнью Виллебранда. БВ – одно из самых распространённых заболеваний гемостаза с частотой встречаемости 1:10000 населения [109].

БВ делится на три типа:

1 тип – частичный количественный дефицит ФВ;

2 тип:

2А тип – дефицит крупных мультимеров ФВ, обусловленный нарушением биосинтеза СБМ, например, за счет дефекта мультимеризации (фенотипы ПС и ПЕ), дефекта димеризации (фенотип ПД) или повышенной активностью ADAMTS-13 (фенотип ПА);

2В тип – дефицит СБМ, обусловленный повышением аффинности ФВ к GPIIb тромбоцитов (ФВ спонтанно взаимодействуют с тромбоцитами, что приводит к уменьшению СБМ ФВ в кровотоке, а чрезмерный протеолиз ФВ с помощью ADAMTS13 и быстрый клиренс образованных комплексов «ФВ-тромбоцит» из кровотока предотвращают тромботические осложнения при БВ типа 2В [110]);

2М тип – снижение аффинности ФВ к GPIIb тромбоцитов;

2N тип – специфический дефект взаимодействия ФВ с фактором VIII, который вызывает вторичный дефицит фактора VIII при нормальном количестве ФВ;

3 тип – полное отсутствие ФВ.

БВ имеет аутосомно-доминантный тип наследования, за исключением 2N и 3 типов. Клиническая картина подобна той, которая отмечается при гемофилии и включает в себя носовые и десневые кровотечения, гематомы в подкожно-жировой и мышечной ткани, длительные кровотечения при травме кожных покровов, метроррагии. Десмопрессин, который стимулирует высвобождение ФВ из эндотелия, является основным препаратом для лечения легких форм БВ. При

тяжелых формах единственным способом лечения остаются регулярные трансфузии обогащенной ФВ плазмы [111]. Приобретенный синдром Виллебранда – редкое заболевание, связанное с приобретенным количественным и качественным дефицитом ФВ при лимфопролиферативных (хронический лимфоцитарный лейкоз), миелолиферативных (тромбоцитемия), сердечно-сосудистых (стеноз устья аорты), иммунологических (гипотиреоз) заболеваниях [112, 113].

БВ тромбоцитарного типа является аутосомно-доминантным заболеванием, для которого характерно гиперреактивность тромбоцитов, а не снижение их функции. Заболевание обусловлено мутациями в гене тромбоцитов GP1BA, который кодирует рецептор GPIb. Патогенетические механизмы малоизучены. Клиническими проявлениями являются кожно-слизистые кровотечения от легкой до умеренной степени. Для этого заболевания характерны низкие значения СБМ ФВ и тромбоцитопения, обусловленная снижением количественного образования тромбоцитов мегакариоцитами [114, 115]. БВ тромбоцитарного типа часто ошибочно диагностируется как БВ типа 2В и может составлять до 15% от общего числа пациентов с диагнозом БВ типа 2В [116].

Синдром Бернара-Сулье – редкое заболевание, обычно с аутосомно-рецессивным типом наследования (крайне редко с аутосомно-доминантным типом) и частотой встречаемости около 1:1000000 населения. Этот синдром чаще встречается в семьях с кровным родством родителей. Заболевание обусловлено мутацией генов GP1BA, GP1BB, GP9 и GP5, которые кодируют субъединицы комплекса гликопротеин Ib/IX/V, основным компонентом которого является GPIb тромбоцитов. Измененный рецептор не способен связываться с ФВ, что ведет к нарушению первичного гемостаза. Для синдрома характерна макротромбоцитопения. Наиболее частые клинические проявления – кровотечения (десневые, носовые, избыточные постхирургические, меноррагия, в то время как внутричерепные, внутрисуставные кровотечения крайне редки) и мелкопятнистые кровоизлияния на кожных покровах (пурпура). Для лечения синдрома Бернара-Сулье используется антифибринолитическая терапия (например, транексамовая

кислота), трансфузии тромбоцитарной массы, а также аллогенная трансплантация костного мозга [117].

Синдром серых тромбоцитов – редкое аутосомно-рецессивное заболевание, при котором происходит нарушение синтеза α -гранул в мегакариоцитах и тромбоцитах вследствие мутаций в гене NBEAL2. Для синдрома характерны макротромбоцитопения, спленомегалия, фиброз костного мозга и повышенный уровень витамина В12. Типичными проявлениями заболевания являются кровотечения с легкой и умеренной степенью тяжести. Электронная микроскопия остается «золотым» стандартом диагностики, при которой определяется отсутствие или значительное снижение α -гранул, что придает тромбоцитам сероватый цвет. ФВ может определяться внутри таких сохранённых «рудиментарных» гранул с помощью специального окрашивания, однако, количество ФВ обычно снижено внутри таких α -гранул, также ФВ неправильно упакован и не способен выделяться при активации тромбоцитов. Специфического лечения не существует. Лечение обычно симптоматическое и зависит от выраженности кровотечений. Трансплантация стволовых клеток может быть рассмотрена у пациентов с тяжелым течением болезни [118].

Повышенный уровень СБМ ФВ, который возникает из-за дефицита ADAMTS-13, приводит к возникновению ТТП, для которой характерно тромбообразование в микроциркуляторном русле [119]. Спонтанное тромбообразование при ТТП может происходить не только за счет высоких значений СБМ ФВ, но и потому, что при ТТП ФВ находится в постоянной активной конформации [120]. Это может сопровождаться острым повреждением почек, неврологическими и психическими нарушениями, лихорадкой, гемолитической анемией, тромбоцитопенией в сочетании с пурпурой. Причиной ТТП могут быть генетические аномалии (врожденная ТТП), либо выработка аутоантител к ADAMTS-13 (приобретенная ТТП). Нормальные значения ADAMTS-13 варьируют от 350 до 730 нг/мл, значения ADAMTS-13 у пациентов с ТТП - от 120 до 360 нг/мл. Определение активности ADAMTS-13 является ключевым для диагностики ТТП. Для оценки активности ADAMTS-13 используется пептидный субстрат

(синтетические олигопептиды, имитирующие фрагмент естественного субстрата) ФВ или полипептид домена А2 ФВ, который инкубируется с плазмой пациента. Далее измеряют продукты расщепления и расчет активности [121]. Нормальные показатели активности ADAMTS-13 варьируют от 50 до 100% [122]. ТТП проявляется клинически, когда активность ADAMTS-13 становится менее 10%, что ниже предела обнаружения многих методов. Как только активность ADAMTS-13 становится определяемой (более 10%), симптомы ТТП могут исчезать. Дифференциальная диагностика между врожденной и приобретенной ТТП чрезвычайно важна, так как лечение этих опасных для жизни состояний существенно различается. Диагностика врожденной ТТП строится на выявлении выраженного снижения активности ADAMTS-13, отсутствия аутоантител к ADAMTS-13 и выявление мутаций гена ADAMTS-13. Постановка диагноза приобретенной ТТП основывается на обнаружении снижения активности ADAMTS-13 и аутоантител к ADAMTS-13. Пациенты с врожденной ТТП хорошо реагируют на заместительную плазменную терапию, которая увеличивает выживаемость с 10% до 80-90%. Во время плазмафереза элиминируются СБМ ФВ и аутоантитела к ADAMTS-13. Инфузии донорской плазмы с нормальным содержанием ADAMTS-13 так же эффективны в лечении и используются в сочетании с плазмаферезом. Пациенты с приобретенной ТТП плохо отвечают на инфузии плазмы. При приобретенной ТТП подавление продукции аутоантител кортикостероидами, разрушение CD20⁺ В-лимфоцитов ритуксимабом или использование других иммунодепрессантов считается эффективным. Спленэктомия эффективна, но применяется только в рефрактерных случаях приобретенной ТТП [123]. Недавно в дополнение к плазмообменной терапии у пациентов с врожденной ТТП был рекомендован каплацизумаб – фрагмент иммуноглобулина, нацеленный на домен А1 ФВ и предотвращающий его взаимодействие с GPIb тромбоцитов [27].

1.4. Диагностические тесты для выявления количественных изменений и дисфункции фактора фон Виллебранда

В диагностике БВ и ее типов используется комплекс различных лабораторных методов исследований. Согласно Российским клиническим рекомендациям по диагностике и лечению болезни Виллебранда, при подозрении на БВ на первом этапе оценивают количество тромбоцитов, измеряют время кровотечения и активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) [124]. При обнаружении нормального количества тромбоцитов с увеличением АЧТВ и/или времени свертывания измеряется уровень ФВ (vWF:Ag), ристоцетинкофакторная активность (vWF:RCo) и их отношение (vWF:RCo / vWF:Ag), что позволяет установить диагноз БВ 1 и 3 типов (количественный дефицит ФВ). У пациентов с БВ 3 типа, наравне с отсутствием или крайне низкими показателями vWF:Ag и vWF:RCo, отмечается очень низкое значение прокоагулянтной активности фактора VIII (FVIII:C). Для дифференциальной диагностики БВ 2 типа (качественные дефекты ФВ) в основном используют анализ структуры мультимеров ФВ при помощи электрофореза на агарозных гелях и выявление снижения отношения vWF:RCo / vWF:Ag. Для 2А и 2В типов характерен дефицит СБМ ФВ со снижением отношения vWF:RCo / vWF:Ag, тогда как эти же показатели у пациентов с 2М и 2N типами остаются нормальными. Диагноз 2N типа БВ устанавливают с помощью FVIII:C. В неясных случаях для диагностики типов БВ возможна оценка коллаген-связывающей активности ФВ (vWF:CB) (для диагностики 2А типа), генетический анализ (для диагностики 2В и 2N типов), исследование агрегации тромбоцитов, индуцированной ристоцетином (RIPA) (для диагностики 2В типа). Алгоритм диагностики БВ, согласно Американским рекомендациям по диагностике болезни Виллебранда, несколько отличен [125].

Измерение уровня ФВ в крови в основном проводится с помощью ИФА, в основе которого лежит высокоспецифическая реакция антиген-антитело. ИФА показывает содержание в плазме крови всех мультимеров ФВ, от СБМ до мультимеров, состоящих из нескольких димеров. Нормальный уровень ФВ

составляет 50-200% [126]. Уровень ФВ может меняться у одного и того же человека в разные периоды времени в широком диапазоне. Внутриведенная дельта составляет от 20 до 120% [127, 128]. Расщепление СБМ ФВ на более мелкие составляющие существенно влияет на его гемостатическую функцию. При этом общее содержание ФВ в крови не будет изменяться. Таким образом, измерение уровня ФВ в плазме крови с помощью ИФА показывает общее количество этого белка, но не его функциональное состояние.

Уровень ФВ в крови зависит от группы крови, что может затруднить дифференциальную диагностику между здоровыми людьми с низким уровнем ФВ и пациентами с легким течением БВ [127]. Пациенты с группой крови О имеют более низкую концентрацию ФВ, чем пациенты с другой группой крови [129, 130]. В исследовании Franchini M. и соавт., в которое вошли 1117 доноров крови, было показано, что средний уровень ФВ в плазме доноров с группой крови О равнялся 74,8 МЕ/дл. Уровень ФВ был выше у доноров с группой крови А (105,9 МЕ/дл) и группой крови В (116,9 МЕ/дл). Самый высокий уровень ФВ обнаруживали у доноров с группой крови АВ (123,3 МЕ/дл) [131]. У пациентов с разной группой крови период полувыведения ФВ может отличаться [83, 132].

Увеличение уровня прокоагулянтных факторов свертывания (например, факторов VII, VIII, X и ФВ) происходит вследствие гормональных изменений во время беременности. Это является физиологической адаптацией, компенсирующей повышенный риск кровотечения во время родов. Увеличение уровня ФВ и фактора VIII начинается во втором триместре и достигает пика в третьем триместре беременности. Увеличение уровня ФВ во время беременности может затруднить диагностику легких форм БВ [133].

«Золотым» стандартом оценки активности ФВ является анализ ристоцетин-кофакторной активности. При выполнении анализа используют антибиотик – ристоцетин, который выступает в качестве агента способного развернуть мультимер ФВ, тем самым индуцируя связывание GPIb тромбоцитов с доменом А1 ФВ [134]. Плазму пациента, содержащую ФВ, добавляют к нормальным тромбоцитам в присутствии ристоцетина. Это приводит к ФВ-зависимой

спонтанной агглютинации тромбоцитов. Агглютинацию тромбоцитов измеряют с помощью агрегометра. Анализ проводится, когда мультимеры ФВ активируются не физиологичным способом, а химическим агентом. Анализ может быть использован для диагностики БВ, особенно в случае тяжелой недостаточности ФВ (например, при БВ 3 типа, при котором ФВ практически или полностью отсутствует в крови). В исследованиях выявлены различия нормальных значений ристоцетин-кофакторной активности между пациентами с первой и второй группами крови (50-130%), а также пациентами с третьей и четвертой группами крови (65-165%) [20].

Анализ структуры мультимерных форм ФВ с помощью электрофореза ФВ на агарозных гелях остается основным способом оценки дефицита СБМ ФВ [109, 127]. Мультимерный анализ ФВ крайне важен для выделения подтипов БВ 2 типа, а также имеет диагностическую ценность при дефиците СБМ ФВ у пациентов с приобретенным синдромом Виллебранда, обусловленный клапанной патологией сердца [78, 127, 135]. Для обнаружения СБМ ФВ так же может быть использована оценка коллаген-связывающей способности ФВ [127, 136].

Для оценки первичного гемостаза было разработано специальное устройство, получившее название «анализатор функции тромбоцитов-100» (PFA-100), которое ранее часто использовали для скрининга пациентов с БВ. Образцы цельной крови в PFA-100 прокачиваются через небольшое отверстие в мембране покрытой коллагеном и активатором тромбоцитов, таким как аденозиндифосфат (АДФ) или эпинефрин, или АДФ и простагландин Е1. Скорость сдвига, создаваемая при прокачивании крови, может достигать 6000 с^{-1} , что достаточно для активации ФВ. При проведении анализа определяет время от момента начала прокачивания крови до момента окклюзии отверстия (время закрытия). Адгезия тромбоцитов и последующая агрегация опосредована главным образом взаимодействием ФВ с GPIb и GPIIb/IIIa тромбоцитов. На время закрытия могут влиять нестероидные противовоспалительные препараты, группа крови, время забора крови и даже потребление какао [137, 138]. В настоящее время PFA-100 продолжают часто использовать в научных работах.

1.5. Фактор фон Виллебранда и сердечно-сосудистые заболевания

1.5.1. Стеноз устья аорты

Возникновение криптогенных желудочно-кишечных кровотечений у пациентов со стенозом устья аорты (УА) впервые было описано Heyde E.C. в 1958 г. [139]. В 1992 г. Warkentin T.E. и соавт. предположили, что желудочно-кишечные кровотечения обусловлены ангиодисплазией (аномалией кровеносных сосудов в желудочно-кишечном тракте) и низким уровнем СБМ ФВ из-за наличия стеноза УА или гипертрофической кардиомиопатии (ГКМП) [140]. В 2002 г. Warkentin T.E. и соавт. сообщили о двух случаях стеноза УА тяжелой степени с сопутствующим желудочно-кишечным кровотечением, которое прекратилось после замены аортального клапана. Примечательно то, что до операции количество тромбоцитов, активированное частичное тромбопластиновое время, плазменный уровень фактора VIII и ФВ, а также ристоцетин-кофакторная активность были нормальными. Одновременно с этим наблюдалось значительное снижение СБМ ФВ. После замены аортального клапана уровень СБМ ФВ восстанавливался и оставался нормальным в течение десятилетнего периода наблюдения [141].

При стенозе УА тяжелой степени в устье аорты происходит резкое увеличение скорости сдвига. СБМ ФВ активируются, проходя через стенозированный участок, и подвергаются протеолизу под действием ADAMTS-13. При стенозе УА тяжелой степени уровень СБМ ФВ может снижаться на 50% от нормального значения [142]. Снижению при стенозе УА секреции СБМ ФВ из эндотелия способствует низкое пульсовое давление [143, 144]. Количественный дефицит СБМ ФВ приводит к возникновению приобретенного синдрома Виллебранда (по мультимерному составу имеет сходство с БВ 2А типа), а его клиническое проявление у пациентов с клапанной болезнью сердца называется синдромом Хейде. Этот синдром характеризуется желудочно-кишечными кровотечениями из подслизистых артериальных мальформаций. Тяжесть

кровотечений усугубляется вместе с прогрессированием стеноза УА [145]. Пациенты со стенозом УА тяжелой степени так же сообщают о подкожных кровотечениях и кровотечениях в слизистых оболочках. При стенозе УА через суженный участок проходит весь объем циркулирующей крови, что является решающим фактором в развитии синдрома Хейде. У пациентов с тяжелым коронарным или периферическим атеросклерозом дефицит ФВ не возникает, потому что через суженные участки проходит малая доля от общего объема крови. Замена клапана приводит к быстрому прекращению кровотечений. Нормализация скорости сдвига в устье аорты и пульсового давления приводит к увеличению уровня СБМ ФВ в течение нескольких часов [144, 146].

Возникновение дефицита СБМ ФВ при тяжелом стенозе УА и восстановление их нормального уровня после протезирования аортального клапана было продемонстрировано в ряде исследований. В исследование Panzer S. и соавт. вошли 47 пациентов с тяжелым стенозом УА, которым была проведена замена аортального клапана. У всех пациентов исходно отмечалось снижение уровня СБМ ФВ. После замены клапана у большинства пациентов наблюдалось восстановление нормальных значений СБМ ФВ. Время закрытия при оценке функциональной активности тромбоцитов на анализаторе PFA-100 было увеличено перед операцией и нормализовалось после оперативного лечения. Авторы показали, что снижение количества СБМ ФВ влияет на адгезию тромбоцитов и, в большей степени, на АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов [147]. В исследовании Vincentelli A. и соавт., в которое вошли 50 пациентов с тяжелым стенозом УА, о подкожных кровоизлияниях и кровоизлияниях в слизистые оболочки сообщили 21% участников. Уровень в крови ФВ был нормальным у всех пациентов. Время закрытия при оценке функциональной активности тромбоцитов на анализаторе PFA-100 было увеличено, а количество СБМ и коллаген-связывающая активность ФВ были снижены. Через день после хирургического лечения порока сердца время закрытия PFA-100 и уровень СБМ ФВ нормализовались [148]. В двух других исследованиях у пациентов с тяжелым стенозом УА, перенесших протезирование аортального клапана, наблюдалась такая же картина. Перед операцией время

закрытия при оценке функциональной активности тромбоцитов на анализаторе PFA-100 было увеличено, а уровень СБМ ФВ был снижен. Оба параметра нормализовались после успешной замены клапана [142, 148]. Проспективное исследование продолжительностью 18 месяцев, в которое вошли пациенты после протезирования аортального клапана, а также несколько других исследований с периодом наблюдения от 2 недель до 6 месяцев показали, что после протезирования аортального клапана уровень СБМ ФВ в плазме крови больше не снижался [142]. Уровень СБМ ФВ может не восстановиться, если после замены аортального клапана возникает выраженная аортальная регургитация [148]. Исследования по изучению приобретенного синдрома ФВ у пациентов со стенозом УА показали, что, несмотря на наличие кровотечений, уровень ФВ и ристоцетин-кофакторная активность в плазме крови оставались нормальными [142]. В ряде исследований сообщается о развитии приобретенного синдрома ФВ не только при стенозе УА, но и у пациентов с аортальной и митральной регургитацией [144, 149-153].

Диагностика нарушения гемостаза при синдроме Хейде схожа с диагностикой БВ 2А типа. Для диагностики характерно нормальное количество тромбоцитов при увеличении время свертывания и/или АЧТВ, возможно незначительное снижение или нормальные значения $vWF:Ag$ со снижением $vWF:RCo$ менее 20%. В качестве скринингового метода возможно применение PFA-100, где будет наблюдаться увеличение времени закрытия (в настоящий момент для диагностики БВ, согласно Российским и Американским рекомендациям по диагностике БВ, PFA-100 не используется). Характерной чертой БВ 2А типа является снижение ВВМ ФВ при мультимерном анализе ФВ с помощью электрофореза. Выраженное снижение $vWF:CB$ и снижение RIPA может внести ясность в постановке диагноза БВ 2А типа [124]. Согласно Американским рекомендациям по диагностике болезни Виллебранда, в качестве альтернативного метода вместо мультимерного анализа ФВ можно использовать соотношение $vWF:CB / vWF:Ag$ с высокой чувствительностью и специфичностью теста (90% и 95%, соответственно), а вместо RIPA применять генетическое тестирование [125].

1.5.2. Гипертрофическая кардиомиопатия

При ГКМП обструкция выходного тракта левого желудочка предрасполагает к протеолизу СБМ ФВ аналогично тому, как это происходит при стенозе УА. Blackshear J.L. и соавт. провели исследование, в которое вошли 5 пациентов с симптоматической обструктивной ГКМП. Спонтанные желудочно-кишечные кровотечения, кровотечения из слизистых оболочек или чрезмерное послеоперационное кровотечение наблюдалось у всех пациентов. Уровень ФВ и ристоцетин-кофакторная активность в плазме были в пределах нормы, тогда как электрофорез ФВ выявил снижение СБМ и избыток низкомолекулярных мультимеров ФВ. После септальной микэтомии кровотечения прекратились, а уровень СБМ восстановился до нормальных значений у всех пациентов [154]. В другом исследовании, в которое вошли 28 пациентов с обструктивной ГКМП, уровень ФВ в плазме был нормальным у всех пациентов. Время закрытия при оценке функциональной активности тромбоцитов на анализаторе PFA-100 было увеличено у всех, кроме одного пациента. У всех пациентов наблюдалось снижение уровня СБМ ФВ. Авторы исследования выявили сильную положительную корреляцию между процентом СБМ среди всех мультимеров ФВ и пиковыми градиентами давления в выносящем тракте левого желудочка. Пиковый градиент давления в покое в выносящем тракте левого желудочка, достаточный для снижения процента СБМ среди всех мультимеров ФВ, равнялся 15 мм рт.ст. [155].

1.5.3. Вспомогательное устройство левого желудочка

Одними из наиболее частых осложнений, отмечаемых при применении левожелудочковых вспомогательных устройств, являются желудочно-кишечные кровотечения. Среди причин, приводящих к ним, отмечают возникновение приобретенного синдрома ФВ, обусловленного протеолизом СБМ ФВ при прохождении потока крови через насос, если оно в силу каких-либо обстоятельств, связанных с устройством или работой насоса, сопровождается выраженным

увеличением скорости сдвига. Устранение дефицита СБМ ФМ происходит в течение нескольких часов после эксплантации вспомогательного устройства [156].

1.5.4. Ишемическая болезнь сердца

Возникновению ИБС и развитию ее осложнений способствует повышенная склонность к тромбообразованию. С учетом участия ФВ в гемостазе, можно предположить, что нарушение функции этого фактора будет влиять на возникновение и течение ИБС. Подобное влияние было продемонстрировано в ряде экспериментов на животных. В исследовании Nichols, T.C. и соавт. 8 здоровых свиней и 6 свиней с БВ получали в течение 24 недель диету с высоким содержанием холестерина с последующей оценкой коронарных артерий на наличие атеросклероза. На диете развилась выраженная гиперхолестеринемия, приведшая к уровню общего холестерина (ОХС) в крови равному 7-39 ммоль/л. Под общей анестезией у всех свиней осуществили пережатие хирургическим зажимом передней нисходящей артерии, правой и левой общих сонных артерий. В последующем при аутопсии коронарный атеросклероз был обнаружен у всех здоровых свиней, кроме одной, и у всех свиней с БВ. У фенотипически нормальных свиней был обнаружен окклюзирующий тромбоз передней нисходящей артерии и обеих общих сонных артерий, тогда как у свиней с БВ тромбоз не формировался [157]. В другом эксперименте на мышах было показано влияние дефицита ADAMTS-13 и ФВ на возникновение ИМ, вызванного перевязкой передней нисходящей коронарной артерии. Размер ИМ был значительно больше у гомозиготных ADAMTS-13-дефицитных мышей (в среднем в 22,2±1,1% случаев), по сравнению с гетерозиготными ADAMTS-13-дефицитными мышами (в среднем в 17,3±0,8% случаев) и с мышами без дефицита ADAMTS-13 (в среднем в 16,9±1,2% случаев). Авторами исследования было высказано предположение, что для предотвращения возникновения ИМ достаточная активность ADAMTS-13 должна составлять 50%. Зона ИМ была меньше у мышей с дефицитом ФВ (в

среднем в $7,3 \pm 0,7\%$ случаев), по сравнению с мышами без его дефицита (в среднем в $18,6 \pm 1,3\%$ случаев) [158].

Более редкое возникновение ИБС отмечено у пациентов с БВ в сравнении с пациентами без этого заболевания. В одном из исследований, в которое вошли 7556 пациентов с БВ разных типов и 19 918 970 пациентов без нее, была проведена оценка распространенности заболеваний, обусловленных атеросклеротическим поражением артерий (ИБС, ИМ, ишемическая болезнь мозга, заболевания периферических артерий) у пациентов с БВ и у пациентов, не имеющих этого заболевания. В исследовании было показано, что заболевания, обусловленные атеросклеротическим поражением артерий, у пациентов с БВ встречаются реже. Согласно многофакторному, логистическому, регрессионному анализу с поправкой на основные факторы риска ИБС, пациенты с БВ имеют меньшую вероятность возникновения ИБС (ОШ 0,86; 95% ДИ 0,80-0,94) и ИМ (ОШ 0,69; 95% ДИ 0,61-0,79) [159]. Схожие результаты получили Miñawá N. и соавт., где вероятность возникновения ИБС у пациентов с БВ после поправки на основные факторы риска была ниже, чем у пациентов без БВ (ОШ 0,65; 95% ДИ, 0,63-0,67) [160].

В ряде исследований было обнаружено различие в уровне ФВ в крови здоровых людей и пациентов с ИБС, а также у пациентов с различными формами ИБС. В том числе, в исследовании Xu A.G. и соавт. у пациентов с ИБС уровень ФВ был равен $141,78 \pm 20,53\%$, среди здоровых добровольцев – $111,95 \pm 17,15\%$ [161]. По данным Kaikita K. И соавт., уровень ФВ у пациентов, госпитализированных в течение 72 часов от момента возникновения ИМ (2151 ± 97 мЕд/мл), был выше, чем у пациентов со стабильной ИБС (1445 ± 93 мЕд/мл) или у пациентов с болевым синдромом в грудной клетке, не имевших гемодинамически значимого стенозирования коронарных артерий (1425 ± 76 мЕд/мл). С другой стороны, уровень ADAMTS-13 был значительно ниже у пациентов с ИМ (799 ± 29 мЕд/мл), чем у пациентов со стабильной стенокардией (996 ± 31 мЕд/мл) или у пациентов без гемодинамически значимого стенозирования коронарных артерий (967 ± 31 мЕд/мл) [162]. В исследование, в которое вошли 1026 пациентов с ИМпST и 652 пациента

контрольной группы, уровень ФВ в крови был почти в 1,5 раза выше у пациентов с ИМпСТ, чем в группе контроля (378,2 и 264,4 нг/мл, соответственно), а активность ADAMTS-13 была ниже у пациентов с ИМпСТ, чем у здоровых людей (90% и 97%, соответственно) [163]. Исследование SMILE, в которое было включено 560 мужчин в возрасте 18-70 лет со стабильной ИБС, перенесших ИМ по крайней мере за 6 месяцев до исследования, и 646 здоровых мужчин, не выявило связи между уровнем в крови ADAMTS-13 и ФВ. В исследовании не было обнаружено различий в уровне ADAMTS-13 у мужчин со стабильной ИБС и у пациентов контрольной группы (101% и 100%, соответственно), а также в уровне ФВ в обеих группах (138% и 135%, соответственно) [164].

Время восстановления уровня ФВ после ИМпСТ было изучено в исследовании на крысах. В него было включено 57 самцов крыс, у которых была легирована передняя нисходящая артерия на расстоянии 2 мм от устья. Крысы были разделены на 4 группы. В первой группе брали кровь из коронарного синуса и нижней полой вены исходно и через 1 час после возникновения ИМ, во второй – через 24 часа после возникновения ИМ, в третьей – через 7 дней после возникновения ИМ. Четвертая группа была группой контроля. Уровень ФВ в крови, взятой из коронарного синуса, увеличивался через 1 час после ИМ в 1,31 раза, через 24 часа – в 0,88 раза. Через 7 дней после ИМ уровень ФВ снижался до нормальных значений. В крови из нижней полой вены уровень ФВ через 1 час после ИМ был в 0,37 раза выше, через 24 часа – в 0,18 раза выше исходного уровня. Уровень ФВ снижался до нормальных значений на седьмой день после возникновения ИМ [165].

В ряде исследований был изучен риск возникновения ИБС в зависимости от уровня ФВ у пациентов, исходно не имевших этого заболевания. В проспективном исследовании 1411 мужчин, не имевших ИБС, были разделены по тертилям в зависимости от уровня ФВ. По истечении наблюдения, максимальный срок которого был равен 16 годам, у пациентов верхнего тертиля риск возникновения ИБС после поправки на общепринятые факторы риска ИБС был в 1,53 раза выше, чем у пациентов нижнего тертиля [166]. В проспективном исследовании, в которое

вошли около 10000 здоровых мужчин, у 296 из них в течение пятилетнего наблюдения возникла ИБС (у 158 мужчин – ИМ и у 142 мужчин – стабильная и нестабильная стенокардия). Исходный уровень ФВ в крови был выше у мужчин, у которых развился ИМ ($129,2 \pm 53,1\%$), по сравнению со здоровыми пациентами ($115,9 \pm 41,8\%$). Риск развития ИМ был в 3,34 выше у пациентов с уровнем ФВ в 4-м квартиле по сравнению с пациентами с уровнем ФВ в 1-м квартиле [167]. В проспективное исследование Reykjavik вошли 1925 пациентов, не имевших ИБС, но у которых за время наблюдения (в среднем 19,4 года) возник ИМ или смерть от ИБС, а также 3616 человек контрольной группы. Исходный уровень ФВ был выше у пациентов с неблагоприятными сердечно-сосудистыми событиями в сравнении с контрольной группой. Согласно многофакторному, логистическому, регрессионному анализу с поправкой на основные факторы риска ИБС, увеличение исходного уровня ФВ на одно стандартное отклонение увеличивало риск возникновения ИМ или смерти от ИБС на 8% (ОШ 1,08; 95% ДИ 1,02-1,15) [168]. Тем не менее, согласно крупному исследованию ARIC, в которое вошли 14477 участников в возрасте 45-64 лет, повышенный уровень ФВ может рассматриваться в качестве фактора риска ИБС, однако, учет повышенного уровня ФВ в дополнении к традиционным факторам риска мало влияет на предсказание возникновения заболевания [169]. Об отсутствии целесообразности учета уровня ФВ для предсказания риска возникновения ИБС свидетельствуют результаты еще нескольких исследований [9, 170, 171].

В отличие от пациентов без ИБС, во многих исследованиях была обнаружена прямая связь между уровнем ФВ и возникновением неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у пациентов с этим заболеванием. В том числе, в проспективное исследование ESCAT вошли 3043 пациента со стенокардией. Продолжительность исследования равнялась 2 годам. Согласно полученным результатам, пациенты, у которых возник ИМ или внезапная сердечная смерть, исходно имели более высокое содержание в крови ФВ. В зависимости от уровня ФВ пациенты были разделены по квантилям. У пациентов верхнего квантиля риск

возникновения неблагоприятных сердечно-сосудистых событий был в 1,85 раза выше, чем у пациентов нижнего квантиля [11].

В исследованиях так же было показано наличие прямой связи между уровнем в крови ФВ и возникновением неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у пациентов, перенесших ИМ, а также между выраженностью повышения ФВ и возникновением неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у пациентов с ИМпСТ. Исследование ENTIRE-TIMI 23, включавшее 314 пациентов с ИМпСТ, у которых уровень ФВ измеряли до и через 48-72 часа после фибринолиза, показало, что уровень ФВ в верхнем квантиле, был связан с более высокой частотой возникновения в последующие 30 дней смертельного исхода и повторного ИМ по сравнению с уровнем ФВ в нижнем квантиле (в 11,2% и 4,1% случаев, соответственно) [10]. У 123 пациентов с перенесенным ИМ в возрасте до 70 лет уровень ФВ был измерен через 3 месяца после ИМ. Наблюдение за пациентами в течение 4,9 лет показало, что более высокий уровень ФВ был независимо связан с рецидивом ИМ и возникновением смерти [8].

В возникновении и прогрессировании атеросклероза, а также в развитии его осложнений ключевую роль играет воспаление. Влияние ФВ на возникновение и течение ИБС может быть связано с участием этого фактора в локальном воспалительном ответе в участках коронарных артерий, пораженных атеросклерозом [81]. Воспалительный процесс инициирует каскад последовательных процессов, приводящих, в том числе, к активации эндотелиальных клеток. Активированный эндотелий секретирует мультимеры ФВ, которые взаимодействуют с тромбоцитами, приводя к их адгезии к сосудистой стенке [81, 172, 173]. Эксперименты *in vitro* показывают, что СБМ ФВ после выделения из телец Вейба-Паладе способны прикрепляться к неповрежденной эндотелиальной поверхности за счет связывания с Р-селектином [174]. Р-селектин является гликопротеином адгезии лейкоцитов, который может так же взаимодействовать с тромбоцитами через GPIb, усиливая адгезию последних [175]. Мультимеры ФВ и тромбоциты, прикрепленные к поврежденному и

активированному эндотелию, могут служить местами рекрутирования лейкоцитов, что приводит к распространению воспалительного процесса [176].

Непосредственное участие ФВ в воспалении было продемонстрировано в экспериментах на животных. Важная роль ФВ в привлечении лейкоцитов и их экстравазации в очаг воспаления была показана в исследовании на мышах с острым перитонитом. Экстравазация лейкоцитов требует связывания ФВ с тромбоцитами, поскольку ингибирование GPIb тромбоцитов ее предотвращает [177]. В одном из исследований блокирование ФВ специфичными антителами у мышей с аутоиммунным васкулитом и контактным дерматитом приводило к снижению ФВ-опосредованного рекрутирования лейкоцитов и снижению кожного воспалительного ответа. В этом исследовании антитела, блокирующие ФВ, не взаимодействовали с GPIb [178]. В схожем исследовании на мышах с той же патологией, но с использованием антител, направленных на домен A1, были получены подобные результаты [179]. Исследование, сравнивающее особенности острого воспаления после ОНМК по ишемическому типу, индуцированного перевязкой правой средней мозговой артерии у мышей с дефицитом ФВ и ADAMTS-13, показало, что мыши с дефицитом ФВ имели меньший размер повреждения головного мозга, пониженное высвобождение цитокинов и инфильтрацию нейтрофилов в месте повреждения по сравнению с мышами с дефицитом ADAMTS-13 [180]. Исследование на мышах с отсутствием ADAMTS-13 показало, что инфузия рекомбинантного ADAMTS-13 существенно снижает миокардиальный апоптоз, высвобождение тропонина-I и приводит к 9-кратному уменьшению количества нейтрофилов, инфильтрирующих зону ишемии миокарда [181].

Повышение уровня ФВ могут обуславливать факторы, способствующие возникновению ИБС и развитию ее осложнений. Уровень ФВ увеличивается с возрастом [15, 182, 183]. В ряде исследований более высокий уровень ФВ в крови был связан курением [182, 184]. Пациенты с СД имели более высокий уровень ФВ в сравнении с пациентами без СД в исследовании ASCET [183]. По данным Stehouwer C.D. и соавт., увеличение уровня ФВ у пациентов с СД происходит в

ответ на возникновение микроальбуминурии [185]. В ряде исследований была изучена связь между наличием АГ и уровнем ФВ. В исследовании Lip G.Y. и соавт. уровень ФВ был выше среди пациентов с АГ, чем у здоровых людей контрольной группы (113% и 98%, соответственно) [186]. В исследовании Lee K.W. и соавт., в которое вошли 73 пациента со стабильной ИБС и АГ, а также 35 здоровых добровольцев, всем пациентам было проведено суточное мониторирование артериального давления (АД). Пациенты были разделены на 4 группы. В 1-ю группу вошли пациенты с высоким пульсовым давлением, во 2-ю группу – с низким пульсовым давлением, в 3-ю группу – с нормальной степенью снижения АД в ночное время, в 4-ю группу – с недостаточной степенью снижения АД в ночное время. Пациенты всех 4-х групп имели более высокий уровень ФВ в крови по сравнению с пациентами контрольной группы ($197 \pm 58\%$ и $120 \pm 18\%$, соответственно). Наивысший уровень ФВ был обнаружен у пациентов с высоким пульсовым давлением ($219 \pm 58\%$) и недостаточной степенью снижения АД в ночное время ($222 \pm 55\%$) [187]. То, что уровень ФВ является слабым, независимым предиктором возникновения ИБС у лиц, не имеющих этого заболевания, отчасти объясняют связью между повышенным уровнем ФВ в крови и наличием у пациента определенных факторов риска ИБС [188].

Уровень ФВ повышается в ответ на интенсивную физическую нагрузку и стресс [189]. Вазопрессин, который повышается в ответ на стрессовые стимулы, индуцирует высвобождение ФВ из эндотелиальных телец Вейбеля-Паладе и существенно увеличивает уровень ФВ. Аналог вазопрессина – десмопрессин используется при лечении БВ для поддержания уровня ФВ в плазме [190]. Ятрогенное повышение уровня ФВ в крови может происходить из-за приема диуретиков, дигоксина, нефракционированного гепарина и пероральных антикоагулянтов [161]. В отличие от гепарина, введение эноксапарина снижает уровень ФВ в плазме [10, 191].

Повышение уровня ФВ может не только влиять на возникновение и течение ИБС, но и быть обусловлено ее наличием. Эндотелиальная дисфункция играет важную роль в патогенезе атеросклероза, увеличивая риск возникновения

неблагоприятных сердечно-сосудистых событий [192]. Принимая во внимание тот факт, что ФВ преимущественно секретируется эндотелием, его повышенный уровень в крови пациентов с ИБС может быть связан с эндотелиальной дисфункцией и повреждением эндотелия, характерных для этого заболевания. Повышение уровня ФВ может вызывать хроническое локальное воспаление в пораженных атеросклерозом стенках артерий.

Повышение уровня ФВ в ответ на воспаление было обнаружено у пациентов с системными воспалительными заболеваниями. В исследовании, в которое вошли 113 пациентов с ревматоидным артритом, склеродермией и системным васкулитом, уровень ФВ в плазме пациентов с этими заболеваниями был выше, чем у здоровых людей контрольной группы [193]. У пациентов с системной красной волчанкой (в первую очередь у пациентов с серозитом) уровень ФВ и ристоцетин-кофакторная активность были выше по сравнению со здоровыми людьми из контрольной группы. Однако более высокий уровень ФВ не был связан с клиническими проявлениями заболевания, включая тромботические осложнения [194]. При остром воспалении уровень ФВ повышается и понижается одновременно с уровнем С-реактивного белка [195]. Различные медиаторы воспаления влияют на высвобождение ФВ из эндотелиальных клеток. Интерлейкин-6, интерлейкин-8 и фактор некроза опухоли- α значительно стимулирует высвобождение ФВ из эндотелиальных телец Вейбеля-Паладе. Интерлейкин-6 препятствует расщеплению ФВ ADAMTS-13 [196].

В большинстве исследований, в которых изучалось участие ФВ в возникновении и течении ИБС, проводилось измерение его уровня в плазме крови с помощью ИФА, который не дает представления о том, каково соотношение функционально активных и неактивных форм ФВ, и использовали анализ ристоцетин-кофакторной активности, при осуществлении которого мультимеры ФВ активируются не физиологичным химическим агентом. Основным недостатком лабораторных методов *in vitro* является их неспособность воспроизвести физиологическую динамику адгезии и агрегации тромбоцитов. В последнее время для избирательной оценки различных этапов гемостаза в условиях, максимально

приближенных к естественным, в научных исследованиях используют специально разработанные устройства, например, микрофлюидные устройства, способные имитировать различные особенности кровотока, в том числе, кровотоков со скоростями сдвига, характерными для артериального или венозного русла, создавать турбулентный поток, имитировать кровотоков характерный для сосудов со сложной анатомией, например, как в би- или трифуркациях, имитировать поток крови в области стенозирующей просвет артерии бляшки и др. Преимуществом этих устройств является то, что они используют небольшой объем крови для получения ряда воспроизводимых результатов, а также могут изучать отдельные звенья гемостаза, например, адгезию изолированно от агрегации тромбоцитов. В дальнейшем такие устройства могут быть использованы для диагностики различных заболеваний системы гемостаза, скрининга эффективности и подбора индивидуальных доз антитромбоцитарных препаратов. Однако такие микрофлюидные системы не стандартизированы и не распространены в клинической практике [24, 97, 103, 197, 198].

1.6. Перспективы лечения, направленного на фактор фон Виллебранда и ADAMTS-13, у пациентов с сердечно-сосудистой патологией

С учетом участия ФВ в возникновении атеротромбоза, перспективным представляется разработка препаратов, блокирующих его взаимодействие с сосудистой стенкой и/или тромбоцитами, с последующим использованием этих препаратов в профилактике ИБС. Большинство препаратов, препятствующих возникновению атеротромбоза и используемых в первичной и вторичной профилактике ИБС, не влияют на ФВ и ADAMTS-13. С доменом А1 ФВ связываются только гепарин, нарушая I ν -рецепторно-опосредованную адгезию тромбоцитов [199].

На рубеже 20-го и 21-го века проводились исследования по изучению антител к сайтам связывания с GPI ν в домене А1 ФВ, таких, как AJ ν W-2 и AJW200. Исследование с AJW200 проводилось на собаках с искусственно вызванными окклюзирующим тромбозом левой коронарной артерии. Сравнивали эффективность ингибирования тромбоза AJW200 и антагонистом GPI ν /IIIa – абциксимабом. AJW200 ингибировал образование тромбов в коронарных артериях без увеличения времени кровотечения, демонстрируя лучший профиль безопасности, чем абциксимаб [25]. Схожие результаты были получены с AJ ν W-2 в другом исследовании на собаках [200]. В исследовании Eto К. и соавт. AJ ν W-2 применяли у пациентов с нестабильной стенокардией и ИМ, а также у лиц контрольной группы. Была оценена связь между взаимодействием ФВ с GPI ν и агрегацией тромбоцитов, индуцированной высокими скоростями сдвига. У пациентов с ИМ и нестабильной стенокардией агрегация тромбоцитов была выше в 2 и 1,3 раза, соответственно, чем в контрольной группе. Агрегация тромбоцитов полностью ингибировалась во всех группах при добавлении AJ ν W-2 [201].

В последующем появились исследования, касающиеся аптамеров (небольших одноцепочечных молекул рибонуклеиновой или дезоксирибонуклеиновой кислот, способных с высокой аффинностью и

специфичностью связываться с молекулой-мишенью), блокирующих взаимодействие сайтов связывания с рецепторами тромбоцитов в доменах A1 ФВ. Введение аптамера первого поколения ARC1779 здоровым добровольцам приводило к дозозависимому ингибированию активности ФВ [28]. Антитромботический эффект ARC1779 изучался на 36 пациентах, перенесших каротидную эндартерэктомию. Было показано, что ARC1779 подавляет активность ФВ и снижает частоту тромбоэмболий, но, в то же время, вызывает кровотечения [202]. Дальнейшие исследования ARC1779 были остановлены из-за недостатка финансирования. TAGX-0004 – аптамер второго поколения, который, блокируя сайты связывания в домене A1, в 10 раз сильнее чем ARC1779 ингибирует функцию ФВ. TAGX-0004 в 20 раз сильнее чем ARC1779 ингибирует в проточной камере образование тромбов [203, 204]. При введении аптамера третьего поколения BT200 здоровым добровольцам он дозозависимо снижал активность ФВ, а время закрытия при проведении исследования на анализаторе PFA-100 с коллагеновым картриджем и АДФ увеличивал более, чем на 300 секунд [205]. В исследование по изучению аптамера BT200 у 320 пациентов с ОКС, он так же дозозависимо снижал активность ФВ [206]. Исследование по изучению аптамера DTRI-031 с использованием микрофлюидной системы продемонстрировало дозозависимое снижение адгезии тромбоцитов, вплоть до полного ингибирования адгезии, при высоких скоростях сдвига. DTRI-031 продемонстрировал способность предотвращать артериальный тромбоз и даже реканализировать окклюзированный участок сосуда при повреждении сонной артерии у мышей и у собак [207].

Анфибатид является обратимым антагонистом рецепторов GPIIb тромбоцитов и, тем самым, ингибирует взаимодействие ФВ с рецепторами. Изучение анфибатида проводилось на мышах с ОНМК по ишемическому типу в исследовании Li T.T. и соавт. Мышам перевязывали среднюю мозговую артерию, затем вводили анфибатид и через 90 минут производили реперфузию. Объем инфаркта головного мозга, количество ФВ и фибриногена в ишемизированном участке у мышей, получавших анфибатид, был меньше, чем у мышей контрольной группы и сопоставим с мышами, получавшими блокатор рецепторов GPIIb/IIIa.

Анфибатид реже вызвал внутримозговые кровоизлияния и имел более короткое время кровотечения, чем блокатор рецепторов GPIIb/IIIa [208]. Схожие результаты были продемонстрированы в исследовании Chu W. и соавт. [209]. В одноцентровом, рандомизированном, открытом исследовании анфибатид вводили 94 здоровым добровольцам. Препарат дозозависимо ингибировал агрегацию тромбоцитов, вызванную ристоцетином, без значительного изменения времени кровотечения [210]. Определение безопасности и эффективности анфибатид изучалось у пациентов с ИМ без подъема сегмента ST. 90 пациентов были разделены на 3 группы в зависимости от полученной дозы (низкой, средней и высокой) анфибатид. 30 человек вошли в контрольную группу. Анфибатид вводили вместе со стандартной двойной антиагрегантной терапией. Более высокое ингибирование агрегации тромбоцитов, индуцированной ристоцетином, наблюдалось во всех группах пациентов, получавших анфибатид, по сравнению с группой контроля, которым вводили плацебо (47% снижение агрегации тромбоцитов в группе высокой дозы, 16% – в группе со средней дозой, 21% – с низкой дозой, 0% – в группе контроля). Смертельный исход, ИМ и массивное кровотечение в течение тридцатидневного наблюдения были редки и сопоставимы между пациентами, получавшими анфибатид и плацебо [211].

ALX-0081 (каплацизумаб) – единственный препарат, направленный на взаимодействие ФВ с тромбоцитами, который одобрен для клинического использования. Каплацизумаб представляет собой гуманизованную двухвалентную наночастицу, которая специфически связывается с сайтом связывания с рецептором GPIIb тромбоцитов в домене A1 ФВ. После получения результатов исследования HERCULES, в котором применение каплацизумаба привело к снижению частоты смертельных исходов, связанных с ТТП, тромбоэмболий и рецидивов ТТП, препарат был одобрен к применению в Европейском Союзе и США для лечения взрослых пациентов с ТТП [27].

Исследования эффективности и безопасности каплацизумаба у пациентов с ИБС немногочисленны. Эффективность каплацизумаба была изучена в исследовании с участием 9 пациентов с ИБС, которым планировалась плановое

ЧКВ, и 11 здоровых людей контрольной группы. Каплацизумаб полностью подавлял адгезию тромбоцитов к коллагену при высокой скорости сдвига, как у пациентов с ИБС, так и у здоровых добровольцев. Однако для полного ингибирования адгезии у пациентов с ИБС требовались большие дозы каплацизумаба. На эффективность каплацизумаба не влияли антитромботические препараты, в том числе, АСК, клопидогрел и гепарин [212]. В рандомизированном, плацебо-контролируемом исследовании с участием 46 пациентов со стабильной ИБС, перенесших ЧКВ, введение каплацизумаба было безопасным и привело к полному ингибированию агрегации тромбоцитов [213]. В 2009 г. было начато рандомизированное, открытое исследование с участием 380 пациентов с ОКС высокого риска, перенесших ЧКВ. Целью исследования являлось сравнение антитромботической эффективности и риска возникновения кровотечений при введении каплацизумаба и блокатора рецепторов GPIIb/IIIa тромбоцитов – абцикзимаба. Результаты исследования не показали преимуществ каплацизумаба в уменьшении риска возникновения кровотечений, а антитромботические эффекты были сопоставимы [214].

В исследовании на мышах было показано, что введение рекомбинантного человеческого ADAMTS-13 уменьшает эндотелиальную дисфункцию и улучшает ремоделирование сердца после перегрузки давлением левого желудочка [215]. Другое исследование на мышах показало, что введение рекомбинантного человеческого ADAMTS-13 привело к уменьшению размера ИМ, вызванного перевязкой передней нисходящей артерии, инфильтрации нейтрофилами ишемизированного миокарда и к снижению высвобождения тропонина-I [181].

Ревасепт, препарат, который конкурентно связывается с коллагеном и предотвращает активацию тромбоцитов через рецепторы тромбоцитов к коллагену (гликопротеины Ib, VI, Ia/IIa). Авторы одного из исследований предположили, что ревасепт, конкурентно связываясь с коллагеном, способен ингибировать адгезию тромбоцитов, опосредованную ФВ [29]. В исследовании ISAR-PLASTER изучалось влияние ревасепта на такие конечные точки, как смертельный исход, повреждение миокарда, определяемое, как пятикратное повышение тропонина Т, и

возникновение кровотечения у пациентов со стабильной ИБС, перенесших плановое ЧКВ. В исследование вошли 334 пациента, средний возраст, который равнялся 67 годам. Пациенты перед ЧКВ одновременно со стандартной антиагрегантной терапией получали реваसेпт в дозе 160 мг, либо реваसेпт в дозе 80 мг, либо плацебо. Результаты исследования не выявили различий в частоте возникновения смертельных исходов, выраженности повреждения миокарда, а также в частоте возникновения кровотечений среди пациентов всех трех групп [216]. Применение реваसेпта непосредственно перед реперфузией у мышей с ОНМК по ишемическому типу, вызванного перевязкой общей сонной артерии, уменьшало его размер, выраженность отека и размеров очага воспаления в ткани головного мозга, не увеличивая риск внутримозгового кровотечения. Однако различий в восстановлении неврологических функций через 24 часа от момента возникновения ОНМК по ишемическому типу у мышей, получавших ревасепт, и у мышей контрольной группы выявлено не было [29]. В настоящий момент проводятся клинические исследования по применению ревасепта у пациентов с нестабильными или разорвавшимися атеросклеротическими бляшками в сонных артериях, перенесших транзиторную ишемическую атаку или ОНМК по ишемическому типу. [217].

Таким образом, частота обнаружения таких факторов риска, как неблагоприятная наследственность в отношении ИБС, курение и высокие уровни ОХС и ХС ЛНП выше у пациентов с ранним возникновением ИБС, чем другие сердечно-сосудистые факторы риска, по сравнению с пациентами с ИБС старших возрастных групп. С учетом участия ФВ в гемостазе и в локальном воспалительном ответе в участках коронарных артерий, пораженных атеросклерозом, можно предположить, что нарушение функции этого фактора будет влиять на возникновение и течение ИБС. Тем не менее детальную оценку подобной связи ограничивают возможности общедоступных методов диагностики заболеваний, обусловленных количественными изменениями и дисфункцией ФВ. С учетом участия ФВ в возникновении атеротромбоза, перспективным представляется разработка препаратов, блокирующих его взаимодействие с сосудистой стенкой

и/или тромбоцитами, с последующим использованием этих препаратов в профилактике ИБС.

ГЛАВА 2. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ПАЦИЕНТОВ

Исследование выполнялось в отделе проблем атеросклероза под руководством член-корр. РАМН, доктора медицинских наук, профессора В.В. Кухарчука ИКК им. А.Л. Мясникова ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава России и в лаборатории клеточного гемостаза под руководством доктора биологических наук З.А. Габбасова ИЭК им. ак. В.Н. Смирнова ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава России.

В основную группу (пациенты с ранним развитием ИБС) было включено 84 пациента со стабильной ИБС (62 мужчины в возрасте до 55 лет с манифестацией ИБС до 50 лет, а также 22 женщины в возрасте до 65 лет с манифестацией ИБС до 60 лет), последовательно поступавших в отделение проблем атеросклероза с 2020 по 2022 гг., у которых при КАГ было выявлено поражение коронарных артерий, приводящее к уменьшению на 50% и выше диаметра просвета ствола левой коронарной артерии и/или магистральной коронарной артерии (передней нисходящей, огибающей, правой) и/или ветви второго порядка диаметром более 2 мм. В контрольную группу было включено 64 пациента (26 мужчин в возрасте до 55 лет и 38 женщин в возрасте до 65 лет), не имеющих типичных клинических проявлений ИБС, у которых не было выявлено стенозирующего коронарного атеросклероза при КАГ или КТА коронарных артерий. Решение о проведении КАГ и КТА коронарных артерий принималось лечащими врачами пациентов.

В исследование не включали пациентов с семейной ГХС; уровнем ХС ЛНП >4,9 ммоль/л; нестабильной стенокардией; в первые 2 месяца после перенесенного ИМ, шунтирования или ангиопластики коронарных артерий; с сердечной недостаточностью III-IV функционального класса по классификации выраженности хронической сердечной недостаточности Нью-Йоркской кардиологической ассоциации; фракцией выброса левого желудочка <40%; постоянной формой фибрилляции/трепетания предсердий; умеренным и тяжелым стенозом устья аорты или левого атриовентрикулярного отверстия;

наследственными и приобретёнными коагулопатиями; злокачественными новообразованиями; клиническими и лабораторными признаками острого инфекционного заболевания в течение 2-х предшествующих месяцев.

У всех включенных в исследование пациентов оценивали наличие факторов риска ИБС (мужской пол, возраст, неблагоприятная наследственность в отношении ИБС, уровень ХС ЛВП <1 ммоль/л у мужчин и $<1,2$ ммоль/л у женщин, уровень ХС ЛНП >3 ммоль/л, курение, СД и АГ). У пациентов с ранним возникновением ИБС оценивали распространенность факторов риска, первые проявления ИБС, результаты КАГ.

Неблагоприятная наследственность в отношении ИБС определялась, если у родственников первой линии было зафиксировано одно или более сердечно-сосудистое заболевание (ИМ или ОНМК по ишемическому типу) в возрасте до 55 лет у мужчин и до 65 лет у женщин [30-33].

АГ определяли при повышении систолического АД более 140 мм рт.ст. и/или диастолического АД более 90 мм рт.ст. при двух и более измерениях АД на двух врачебных визитах или при наличии диагноза АГ в анамнезе. Степень АГ определялась, согласно максимальному зарегистрированному повышению АД (1 степень – 140-159/90-99 мм рт.ст., 2 степень – 160-179/100-109 мм рт.ст., 3 степень – $>180/110$ мм рт.ст.) [218].

У всех курильщиков оценивали индекс курильщика (ИК), рассчитанный по формуле: среднее количество выкуриваемых сигарет в день, умноженное на количество лет курения и деленное на 20. При $ИК \geq 25$ пачка/лет пациент относился к категории злостного курильщика. Пациенты, которые не курили ≥ 6 месяцев, относились к группе бывших курильщиков [219].

СД определяли, если уровень глюкозы плазмы натощак составлял $\geq 7,0$ ммоль/л и/или уровень HbA1c был равен $\geq 6,5\%$ или ранее выставлялся диагноз СД [220].

Ожирение определяли, если ИМТ, рассчитанный по формуле Кеттле: вес (кг) деленный на рост в квадрате (m^2), был ≥ 30 кг/ m^2 [221].

Значения ХС ЛВП <1 ммоль/л у мужчин и $<1,2$ ммоль/л у женщин, а также ХС ЛНП >3 ммоль/л определяли при биохимическом анализе крови при включении в исследование, или при ранее зарегистрированных значениях ХС ЛВП <1 ммоль/л у мужчин и $<1,2$ ммоль/л у женщин, а также ХС ЛНП >3 ммоль/л, согласно предоставленной медицинской документации [222].

У 84 пациентов с ранним возникновением ИБС и у 64 пациентов контрольной группы был измерен уровень ФВ в плазме крови и оценена связь между уровнем ФВ и наличием ИБС. Оценена связь между уровнем ФВ и факторами риска ИБС, группой крови пациентов и режимом антиагрегантной терапией (отсутствие антиагрегантной терапии, АСК, клопидогрел или комбинация АСК с ингибитором P2Y₁₂).

У 84 пациентов с ранним развитием ИБС и у 64 пациентов группы контроля проведена оценка адгезии тромбоцитов к покрытой коллагеном оптической подложке проточной камеры микрофлюидного устройства при циркуляции цельной крови в ней с заданной скоростью. У пациентов обеих групп проведено сопоставление выраженности изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ. Оценена связь между выраженностью изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ с факторами риска (мужской пол, возраст, неблагоприятная наследственность в отношении ИБС, уровень ХС ЛВП <1 ммоль/л у мужчин и $<1,2$ ммоль/л у женщин, уровень ХС ЛНП >3 ммоль/л, курение, СД и АГ), антиагрегантной терапией (АСК, клопидогрел, АСК совместно с клопидогрелом, АСК совместно с тикагрелором) и уровнем ФВ в плазме крови.

Исследование было одобрено этическим комитетом ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава России (протокол №262 от 30 ноября 2020 г.) и выполнено в соответствии с положениями Хельсинкской декларации 1964 г. У всех пациентов получено информированное согласие в письменной форме.

2.1. Измерение адгезии тромбоцитов с помощью микрофлюидного устройства

В лаборатории клеточного гемостаза ИЭК им. ак. В.Н. Смирнова ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава России под руководством доктора биологических наук З.А. Габбасова разработано и запатентовано (патент №2764701) микрофлюидное устройство для регистрации кинетики адгезии тромбоцитов в реальном времени в условиях контролируемого потока [21, 22]. Микрофлюидное устройство состоит из проточной камеры с оптической подложкой с коллагеновым покрытием, системы обеспечивающую движение крови через проточную камеру (перистальтический насос, трубки), источника лазерного излучения с длиной волны излучения $\lambda = 650$ нм, стеклянной оптической призмы, фотодетектора и аналогово-цифрового преобразователя «Е-14-140М» (L-CARD, РФ), подключенного к компьютеру (рис. 4).

В качестве оптической подложки с коллагеновым покрытием использовались предметные стекла прямоугольной формы размерами 25 x 75 мм и толщиной 1,1 мм с адгезивным покрытием силан (Citoglas, Китай). Предметные стекла инкубировали с раствором коллагена крысы типа I в концентрации 0,1 мг/мл (Sigma, США) в течение 2-х часов при комнатной температуре. По завершении 2-х часов одна сторона предметного стекла очищалась от раствора коллагена с помощью дистиллированной воды. Хранение предметных стекол с коллагеновым покрытием (оптическая подложка с коллагеновым покрытием) происходило в холодильной камере при температуре +4 °С.

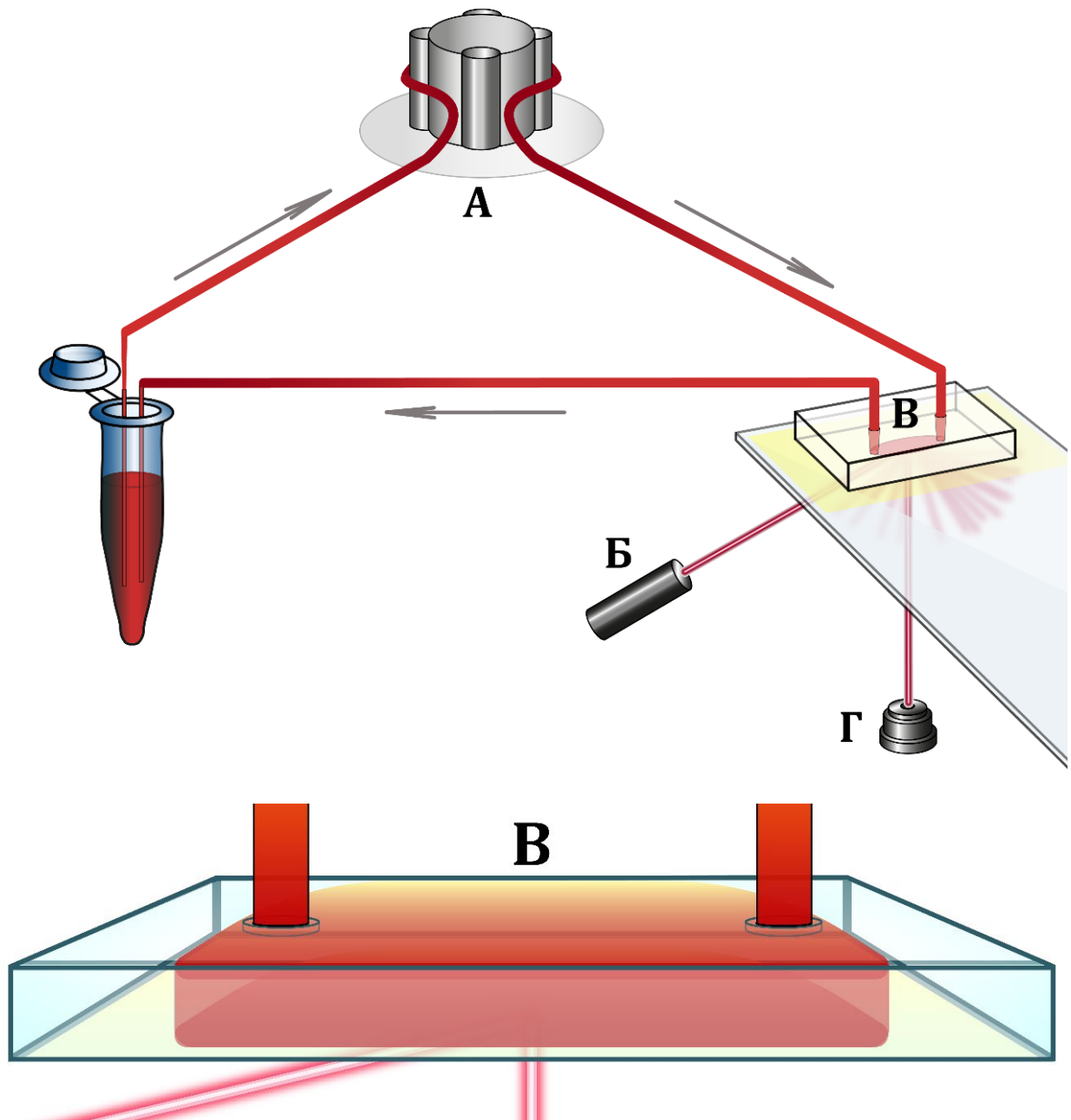


Рис. 4. Микрофлюидное устройство для регистрации кинетики адгезии тромбоцитов в условиях контролируемого потока.

А. Перистальтический насос. Б. Полупроводниковый лазер с длиной волны излучения $\lambda = 650$ нм. В. Проточная камера. Г. Фотодетектор рассеянного лазерного излучения. Рисунок заимствован и модифицирован у Охота С.Д. и соавт. [223].

Забор крови проводился из локтевой вены в пробирки S-Monovette (Sarstedt, Германия). Для исследования использовались пробирки Neutral Z объемом 2,7 мл, содержащая 100 мкмоль/л D-фенилаланил-L-пролил-L-аргинин хлорметилкетона

(Enzo, США) (PPACK). Все эксперименты с измерением адгезии тромбоцитов проводились в течение 2-х часов после забора крови. Для измерения адгезии тромбоцитов при помощи микрофлюидного устройства цельная кровь из пробирки с PPACK в объеме 580 мкл помещалась микропробирку МСТ-150-V (Axugen, США) объемом 1,5 мл (микропробирка). Оптическая подложка с коллагеновым покрытием помещалась на стеклянную оптическую призму микрофлюидного устройства, на которое предварительно наносилось 1-2 капли силиконового масла ПМС-5 (Rexant, РФ). С помощью прижимного механизма микрофлюидного устройства оптическая подложка с коллагеновым покрытием фиксировалась к стеклянной оптической призме образуя герметичный канал (проточная камера).

Исследование состояло из 2-х последовательных опытов.

Опыт 1. Микропробирка с цельной крови подсоединялась к трубке, соединённой с перистальтическим насосом и проточной камерой микрофлюидного устройства. Трубка, выходящая из проточной камеры, подсоединялась обратно к микропробирке с кровью, образуя замкнутое пространство. Лазерное излучение направлялось на оптическую подложку с коллагеновым покрытием проточной камеры. При включении перистальтического насоса цельная кровь с заданной скоростью двигаясь по трубкам, проходила через проточную камеру, вновь попадая в микропробирку. Скорость сдвига при этом составляла $\approx 1300 \text{ с}^{-1}$. Лазерное излучение проникало в цельную кровь на глубину 400-600 нм, тем самым, взаимодействуя с форменными элементами крови (рис. 5). Это взаимодействие приводило к изменениям в интенсивности рассеянного излучения, что регистрировалось фотодетектором. Учитывая неглубокое проникновение лазерного излучения (400-600 нм), изменение интенсивности рассеянного излучения определялось, как взаимодействие (адгезия) форменных элементов крови с коллагеновым покрытием оптической подложки. Рассеивание лазерного излучения нарастало по мере увеличения количества адгезированных клеток на поверхности оптической подложки с коллагеновым покрытием. На изменение интенсивности рассеянного излучения не влияли форменные элементы крови, находящиеся в потоке. Регистрируемое фотодетектором рассеянное лазерное

излучение преобразовывалось в электрическое напряжение и измерялось в милливольтгах (мВ). Таким образом, нарастание электрического напряжения на выходе фотодетектора отражало увеличение степени адгезии клеток к оптической подложке с коллагеновым покрытием. Циркуляция крови в системе и регистрация сигнала фотодетектора осуществлялась в течение 16 мин. Степень адгезии тромбоцитов определяли по 15-минутному значению сигнала фотодетектора по окончании циркуляции. Запись и обработка регистрируемого фотодетектором изменения интенсивности рассеянного света производились с помощью программного обеспечения L-Graph2 версия 2.35.16 (L-CARD, РФ), которое позволяло представить эти изменения в виде графика.

Опыт 2. Для оценки ФВ-опосредованной адгезии в микропробирку с цельной кровью добавляли 10 мкг/мл МАТ кролика к рецепторам GPIb тромбоцитов человека (ИМТЕК, РФ) и инкубировали на протяжении 15-ти мин. Повторяли действия, описанные в опыте 1. Результаты измерений сопоставляли между группами пациентов, а также определяли зависимость адгезии тромбоцитов от приема антиагрегантной терапии и уровня ФВ.

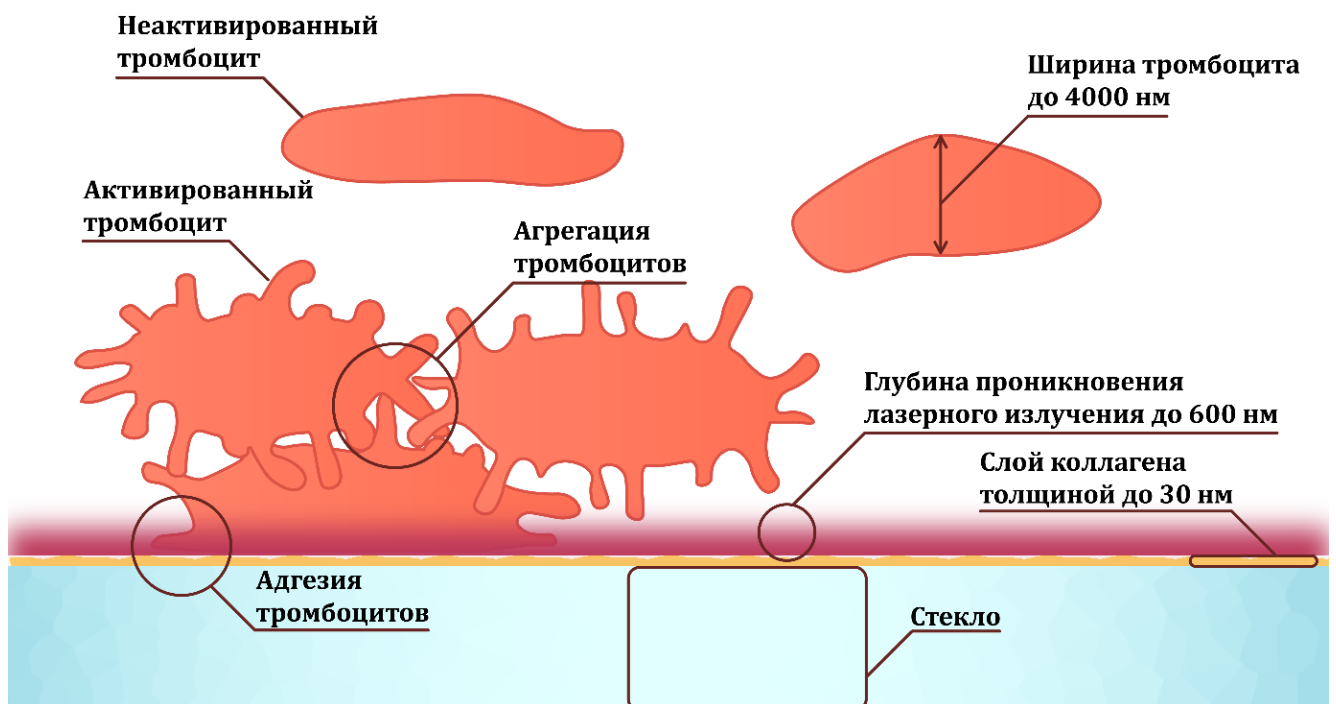


Рис. 5. Схематическое изображение адгезии тромбоцитов к коллагеновому покрытию оптической подложки.

2.2. Методика определения биохимических показателей

Забор венозной крови проводился из локтевой вены в пробирки S-Monovette (Sarstedt, Германия) в утренние часы натощак.

Определение биохимических показателей, отражающих состояние липидного обмена, осуществлялось в лаборатории клинической биохимии липидного обмена (руководитель – доктор медицинских наук, А.В. Тарасов) ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава России. Содержание ОХС, ТГ и ХС ЛВП определяли ферментативным способом на биохимических анализаторах Hitachi 912 (Roche Diagnostics, Швейцария) и Architect C-8000 (Abbott, США). Уровень ХС ЛНП рассчитывали по формуле Фридвальда: $\text{ХС ЛНП} = \text{ОХС} - \text{ХС ЛВП} - \text{ТГ}/2,2$, ммоль/л). Контроль качества выполненных исследований оценивали с помощью контрольных сывороток Precinorm и Precipat (Roche-Diagnostics, Швейцария).

Определение уровня ФВ в крови выполняли в лаборатории клеточной адгезии ИЭК им. ак. В.Н. Смирнова ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава России (руководитель – доктор биологических наук, профессор, А.В. Мазуров). Для исследования использовались пробирки: Citrate 9NC 0.106 mol/l объемом 3 мл (Citrates). Кровь в пробирках Citrates центрифугировалась до получения бедной тромбоцитами плазмы в центрифуге TJ-6 (Beckman Coulter, США) на протяжении 15 мин при скорости 6000 оборотов в минуту (ускорение – 2000 g). Полученная бедная тромбоцитами плазма из пробирки Citrates раскапывалась в микропробирки Screw cap micro tube (Sarstedt, Германия) объемом 0,5 мл по 450 мкл. Бедная тромбоцитами плазма замораживалась и хранилась в морозильной камере при температуре -70°C. Для измерения плазменного уровня ФВ образцы плазмы крови размораживали при комнатной температуре. Измерение количества антигена ФВ в образцах плазмы проводилось методом ИФА. Единицы измерения концентрации ФВ в плазме – % от нормального содержания (50-200%) [224].

2.3. Протокол проведения компьютерной томографической ангиографии коронарных артерий

КТА коронарных артерий выполнялась в ИКК им. А.Л. Мясникова ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава России в отделе томографии (руководитель – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор С.К. Терновой) на компьютерном томографе Aquilion 64 (Toshiba, Japan). Показания к проведению КТА коронарных артерий определялись лечащими врачами исследуемых пациентов. Протокол проведения КТА коронарных артерий включал в себя следующие этапы: создание топограммы, нативную и артериальную фазы исследования. Нативная фаза проводилась до введения контрастного вещества, в то время как артериальная фаза осуществлялась с применением спирального режима томографии, что позволяло получить 64 среза с толщиной 0,5 мм за 400 мс при непрерывном движении стола с пациентом. Уровень тока и напряжения на рентгеновской трубке составляли соответственно 400 мА и 120 кВ. Контрастное вещество в дозе 1,5 мл на кг веса вводилось внутривенно автоматическим шприцем со скоростью 5 мл/с. Проподимость коронарных артерий оценивалась путем анализа изображений сердца на поперечных томографических срезах и при использовании многоплоскостных и трехмерных реконструкций изображений с расчетом степени стеноза с применением полуавтоматических методов. Оценку коронарных артерий производили сотрудники отдела томографии ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава России.

2.4. Протокол проведения коронароангиографии

Ангиографическое исследование коронарных артерий проводилось в ИКК им. А.Л. Мясникова ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава России в отделе рентгенэндоваскулярных методов диагностики и лечения (руководитель – доктор медицинских наук, профессор А.Н. Самко). Показания к проведению КАГ определялись лечащими врачами исследуемых пациентов. Для выполнения КАГ использовались рентгенангиографические устройства компаний Siemens (Германия) и Philips (Нидерланды). Сотрудники отдела рентгенэндоваскулярных методов диагностики и лечения ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава России проводили количественную оценку поражения коронарных артерий визуально, а также с помощью программного обеспечения Xcelera (Philips, Нидерланды). Поражение коронарных артерий, приводящее к уменьшению диаметра просвета ствола левой коронарной артерии и/или магистральной коронарной артерии (передней нисходящей, огибающей, правой) и/или ветви второго порядка диаметром более 2 мм на 50% и выше, считалось гемодинамически значимым поражением [225].

2.5. Статистическая обработка данных

Собранные в ходе исследования количественные данные представлены в виде среднего значения \pm стандартное отклонение, а также в виде медианы и квартилей (25-й и 75-й процентиля). Для проверки статистических гипотез о виде распределения использовали критерий Шапиро-Уилка W . Для сравнительного анализа данных пациентов обеих групп были использованы методы непараметрической статистики: точный критерий Фишера и критерий χ^2 с поправкой Йетса – при сравнении качественных признаков, U -критерий Манна-Уитни – при сравнении количественных признаков в двух независимых группах, критерий Краскела-Уоллиса – при сравнении количественных признаков в трех и более независимых группах, критерий Вилкоксона – при сравнении количественных признаков в двух зависимых группах. Логистический регрессионный анализ использовался для обнаружения независимых факторов риска, связанных с повышенной вероятностью выявления ИБС у мужчин в возрасте до 55 лет и у женщин в возрасте до 65 лет. ROC-анализ использовался для определения оптимального значения выраженности изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ в прогнозировании наличия рано возникшей ИБС. Величину уровня значимости p принимали равной 0,05. Все тесты были двусторонними. Статистический анализ выполнен при помощи программного обеспечения STATISTICA v.7.0 (StatSoft Inc., США) и SPSS Statistics v.17.0 (SPSS Inc., США).

ГЛАВА 3. ОЦЕНКА АДГЕЗИИ ТРОМБОЦИТОВ, ОПОСРЕДОВАННОЙ ФАКТОРОМ ФОН ВИЛЛЕБРАНДА, У ПАЦИЕНТОВ С РАННИМ РАЗВИТИЕМ ИБС

3.1. Влияние блокирования рецепторов GPIIb тромбоцитов на их адгезию к коллагену при повышенной скорости сдвига

В таблице 1 представлена характеристика пациентов с ранним развитием ИБС и пациентов контрольной группы, у которых была проведена сравнительная оценка влияния блокирования рецепторов GPIIb тромбоцитов на их адгезию к коллагену при повышенной скорости сдвига.

Медиана возраста пациентов с ранним развитием ИБС составила 54 [49; 55] года. Мужчинами были 62 (73,8%) пациента, 22 (26,2%) пациента – женщинами. Неблагоприятную наследственность в отношении ИБС имели 27,4% пациентов. Уровень ХС ЛНП >3 ммоль/л был выявлен у 73,8% пациентов, низкий уровень ХС ЛВП (<1 ммоль/л у мужчин и <1,2 ммоль/л у женщин) – у 51,2% пациентов. Общее число курильщиков (активных и бывших) равнялось 63,1%, из них активными курильщиками были 62,2% пациентов, бывшими курильщиками – 37,8% пациентов. У 52,4% пациентов было ожирение. Медиана ИМТ составила 30 [26,5; 33] кг/м². СД имели 21,4% пациентов. АГ – 89,3% пациентов, из них у 2,7% пациентов была АГ 1-й степени, у 25,3% пациентов – АГ 2-й степени и у 72% пациентов – АГ 3-й степени.

Медиана возраста пациентов контрольной группы равнялась 50,5 [44,5; 58] годам. Неблагоприятная наследственность в отношении ИБС встречалась у 15,6% пациентов. Значения ХС ЛНП >3 ммоль/л были выявлены у 60,9% пациентов, низкий уровень ХС ЛВП – у 23,4% пациентов. Общее число курильщиков (активных и бывших) равнялось 37,5%, из них активными курильщиками являлись 58,3% пациентов, бывшими курильщиками – 41,7% пациентов. У 40,6% пациентов имело место ожирение. Медиана ИМТ составила 29 [25,5; 32] кг/м². СД имели 7,8%

пациентов. АГ – 81,2% пациентов, из них у 17,3% пациентов была АГ 1-й степени, у 34,6% – 2-й степени, у 48,1% – 3-й степени.

Пациенты с ранним развитием ИБС чаще были мужчинами, имели СД, низкий уровень ХС ЛВП, повышение АД 3-й степени, чаще были курильщиками и злостными курильщиками, а также имели более высокие значения индекса курильщика. В контрольной группе пациентов чаще встречалась АГ 1-й степени. Пациенты обеих групп не отличались между собой по возрасту, наличию неблагоприятной наследственности в отношении ИБС, ожирению, количеству пациентов с ХС ЛНП >3 ммоль/л и АГ 2-й степени. Пациенты обеих групп имели сопоставимое количество активных курильщиков и тех, кто прекратил курить более, чем за 6 месяцев до момента включения в исследование.

На момент включения в исследование 47 (56%) пациентов с ранним развитием ИБС перенесли ИМ, 67 (79,7%) больных – стентирование коронарных артерий, 8 (9,5%) пациентов – шунтирование коронарных артерий. У мужчин и женщин одинаково часто в анамнезе встречался ИМ – в 59,7% и 54,5% случаев, соответственно, а также стентирование коронарных артерий, соответственно, в 80,6% и 77,2% случаев, и шунтирование коронарных артерий, соответственно, в 11,3% и 9% случаев.

Таблица 1. Характеристика пациентов

	С ранним развитием ИБС (n = 84)	Контрольная группа (n = 64)	p
Возраст, лет	54 [49; 55]	50,5 [44,5; 58]	0,1
Мужчины/женщины	62 (73,8%)/ 22 (26,2%)	26 (40,6%)/ 38 (59,4%)	<0,001
Неблагоприятная наследственность в отношении ИБС	23 (27,4%)	10 (15,6%)	0,1
ХС ЛНП >3 ммоль/л	62 (73,8%)	39 (60,9%)	0,1

Продолжение таблицы 1. Характеристика пациентов

	С ранним развитием ИБС (n = 84)	Контрольная группа (n = 64)	p
ХС ЛВП <1 ммоль/л у мужчин и <1,2 ммоль/л у женщин	43 (51,2%)	15 (23,4%)	0,001
Курение	53 (63,1%)	24 (37,5%)	0,002
<i>Активный курильщик</i>	33 (62,2%)	14 (58,3%)	0,8
<i>Бывший курильщик</i>	20 (37,8%)	10 (41,7%)	0,8
Индекс курильщика, пачка/лет	33 [25; 44]	17 [8; 22]	<0,001
Злостный курильщик	38 (71,7%)	5 (20,8%)	<0,001
Ожирение	44 (52,4%)	26 (40,6%)	0,1
<i>ИМТ, кг/м²</i>	30 [26,5; 33]	29 [25,5; 32]	0,3
Сахарный диабет	18 (21,4%)	5 (7,8%)	0,03
Артериальная гипертензия	75 (89,3%)	52 (81,2%)	0,2
<i>1 степень</i>	2 (2,7%)	9 (17,3%)	0,007
<i>2 степень</i>	19 (25,3%)	18 (34,6%)	0,3
<i>3 степень</i>	54 (72%)	25 (48,1%)	0,009

Примечание. ИБС – ишемическая болезнь сердца; ИМТ - индекс массы тела; ХС ЛНП – холестерин липопротеидов низкой плотности; ХС ЛВП – холестерин липопротеидов высокой плотности. Индекс курильщика – среднее количество выкуриваемых сигарет в день, умноженное на количество лет курения и деленное на 20. Злостный курильщик – индекс курильщика ≥ 25 пачек/лет.

Среди пациентов с ранним развитием ИБС медиана возраста, когда возникли ее первые клинические проявления, равнялась 49 [43; 50] годам (таблица 2). У мужчин возраст возникновения первых клинических проявлений был меньше, чем у женщин. В 57,2% случаев первым проявлением ИБС был ИМ. Частота возникновения ИМ, как первого проявления ИБС, не отличалась у мужчин и у женщин (таблица 2).

Таблица 2. Первые клинические проявления ИБС у пациентов с ее ранним развитием

	Пациенты (n = 84)	Мужчины (n = 62)	Женщины (n = 22)	p
Возраст манифестации ИБС, лет	49 [43; 50]	47 [42; 50]	55,5 [48; 59]	<0,001
ИМ, как первое проявление ИБС	48 (57,2%)	36 (58%)	12 (54,5%)	0,8

Примечание. ИБС – ишемическая болезнь сердца; ИМ – инфаркт миокарда.

Результаты КАГ у пациентов с ранним развитием ИБС представлены в таблице 3. Гемодинамически значимое поражение передней нисходящей артерии было выявлено у 85%, огибающей артерии – у 56,5%, правой коронарной артерии – у 73,7%, основного ствола левой коронарной артерии – у 11,2% пациентов. Атеросклеротическое поражение коронарных артерий, стенозирующее их просвет >50%, чаще встречалось в передней нисходящей артерии, чем в огибающей и правой коронарной артерии (рис. 6). Поражение огибающей артерии чаще встречалось у мужчин, чем у женщин. Поражение одной магистральной коронарной артерии (МКА) имели 27,4% пациентов, двух МКА – 37,5% пациентов, трех МКА – 38,7% пациентов (p = NS). Поражение одной и более МКА с вовлечением основного ствола левой коронарной артерии имели 11,2% пациентов. Поражение одной МКА чаще встречалось у женщин, а поражение трех МКА чаще встречалось у мужчин.

Таблица 3. Результаты коронароангиографии у пациентов с ранним развитием ИБС

	Пациенты (n = 84)	Мужчины (n = 62)	Женщины (n = 22)	p
Ствол ЛКА	9 (10,7%)	7 (11,3%)	2 (9,1%)	1
ПНА	73 (87%)	54 (87,1%)	19 (86,3%)	1
ОА	45 (53,5%)	38 (61,3%)	7 (31,8%)	0,02
ПКА	57 (67,8%)	44 (71%)	13 (59,1%)	0,4
1 МКА	23 (27,4%)	12 (13,3%)	11 (50%)	0,01
2 МКА	30 (37,5%)	20 (32,2%)	10 (45,4%)	0,3
3 МКА	31 (38,7%)	28 (45,2%)	3 (13,6%)	0,009
Ствол ЛКА + ≥ 1 МКА	9 (11,2%)	7 (11,3%)	2 (9,1%)	1

Примечание. ЛКА – левая коронарная артерия; ПНА – передняя нисходящая артерия; ОА – огибающая артерия; ПКА – правая коронарная артерия; МКА – магистральная коронарная артерия.

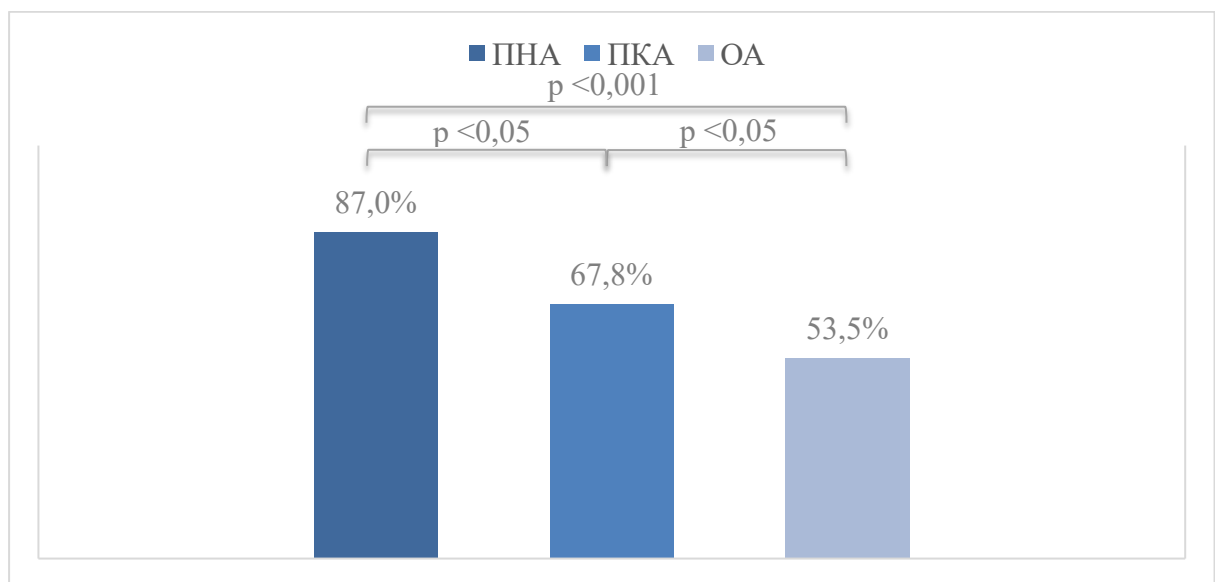


Рис. 6. Атеросклеротическое поражение магистральных коронарных артерий, стенозирующее их просвет $>50\%$, у пациентов с ранним развитием ИБС

Результаты оценки 15-минутных значений адгезии тромбоцитов к покрытой коллагеном оптической подложке проточной камеры микрофлюидного устройства при скорости сдвига 1300 с^{-1} до и после блокирования GPIIb у пациентов обеих групп представлены на рисунках 7а и 7б.

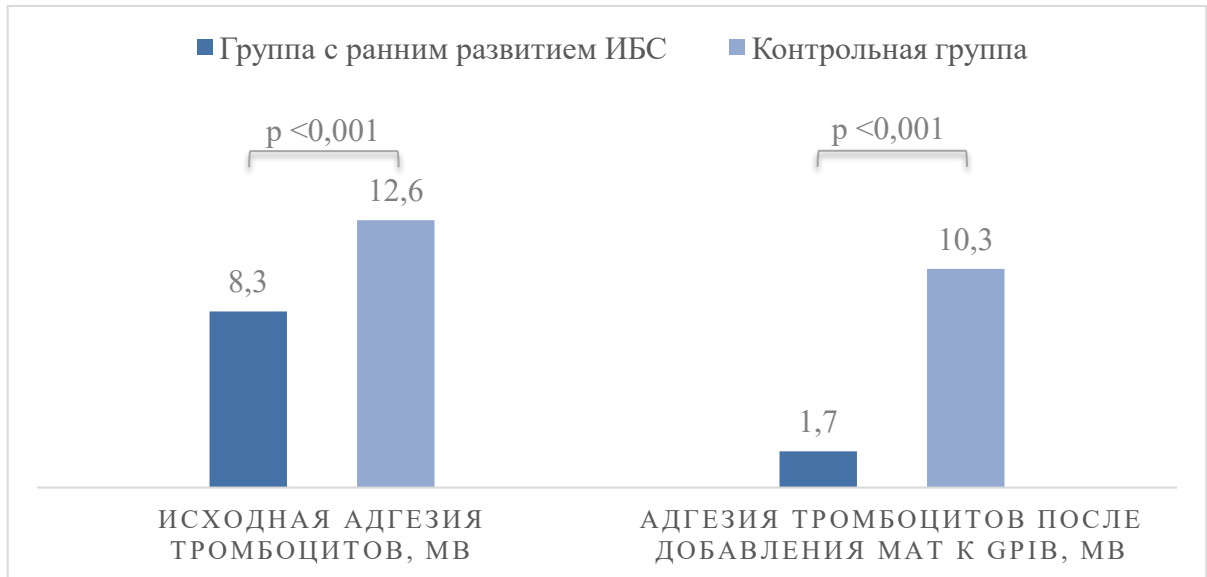


Рис. 7а. Адгезия тромбоцитов до и после блокирования GPIIb у пациентов с ранним развитием ИБС и у пациентов контрольной группы

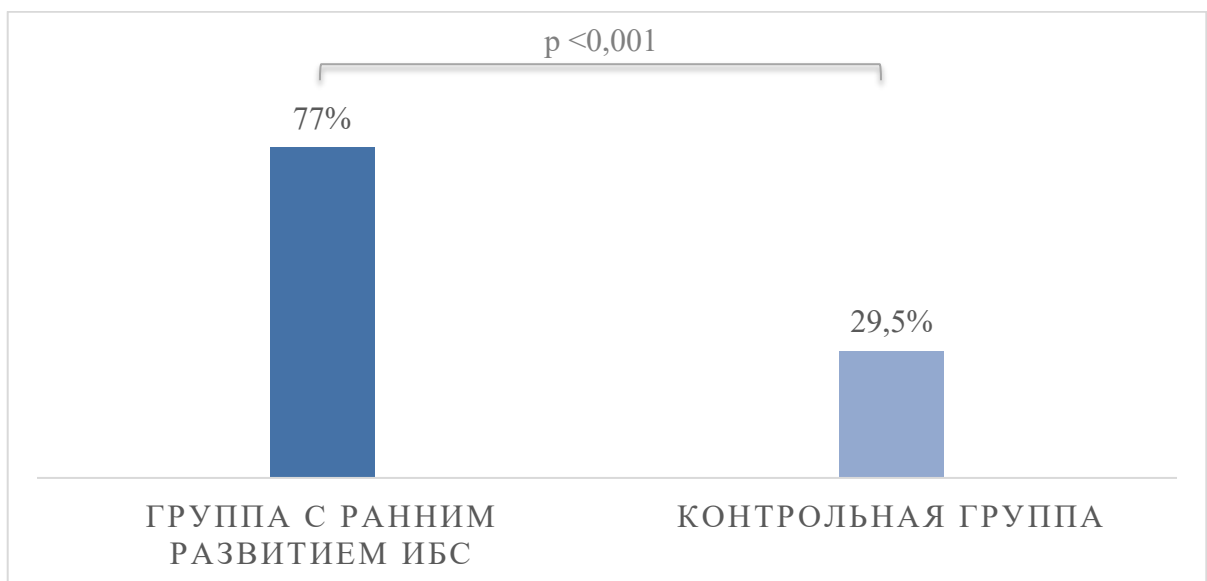
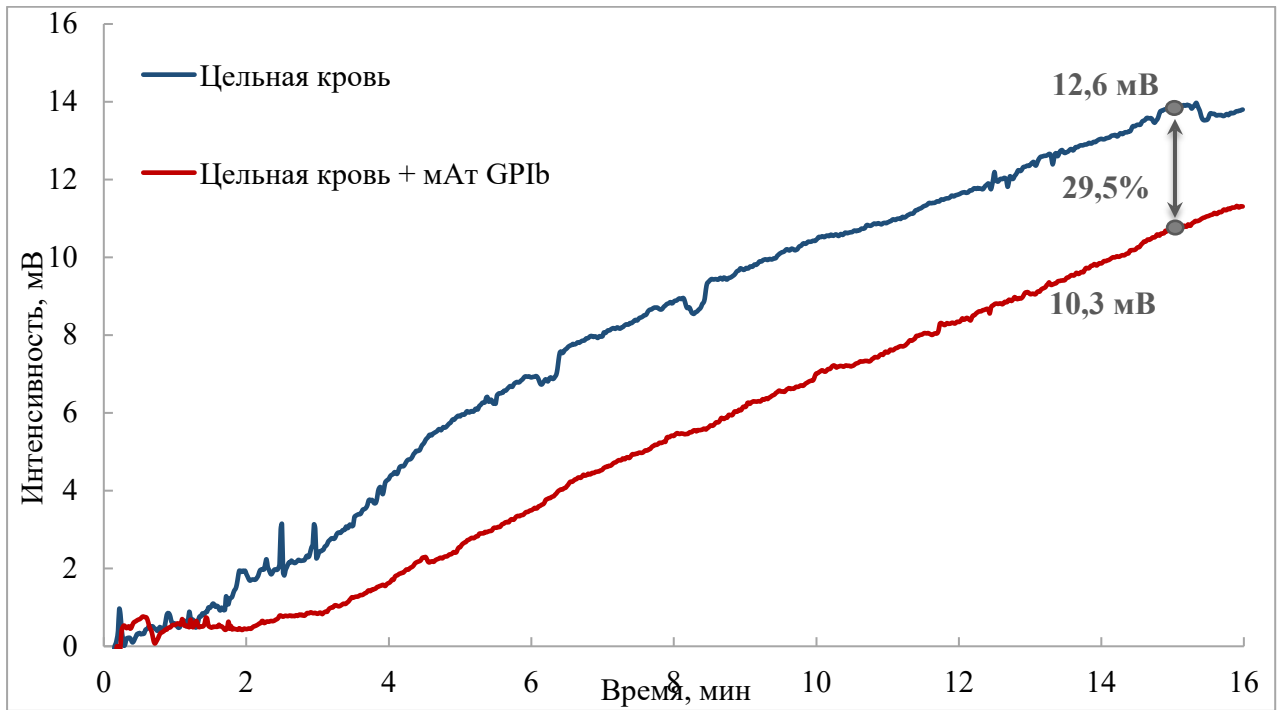
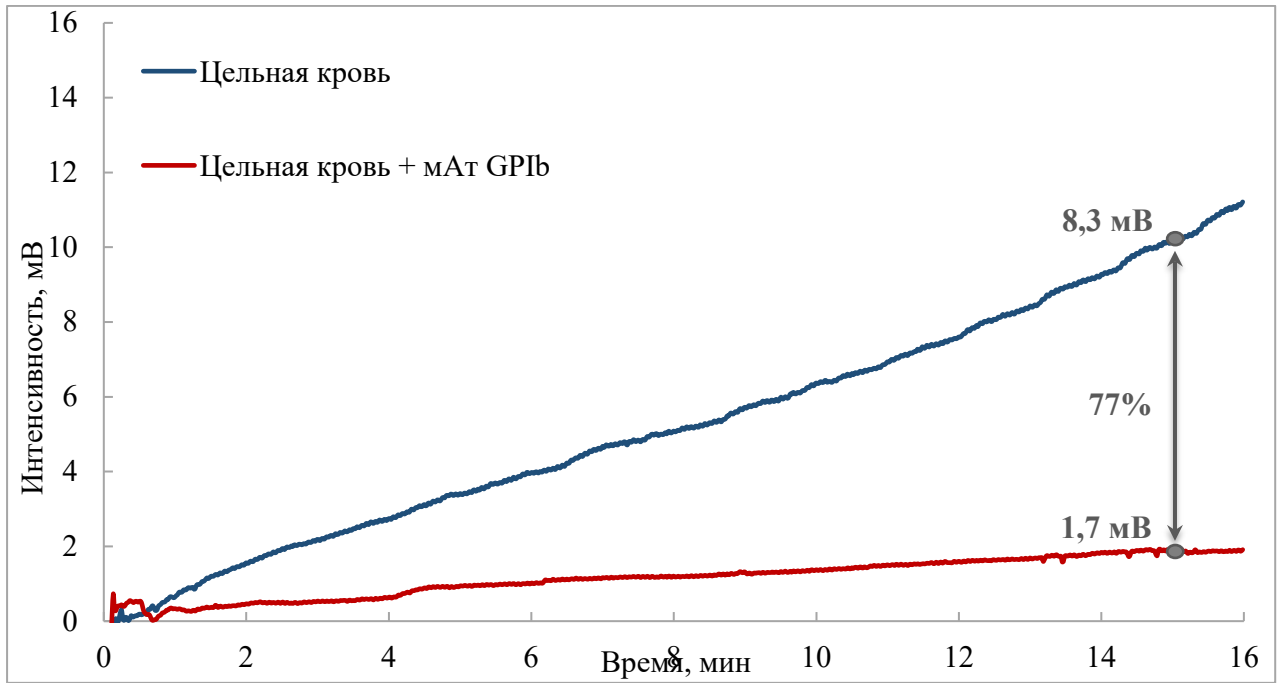


Рис. 7б. Выраженность изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ у пациентов с ранним развитием ИБС и у пациентов контрольной группы

У пациентов с ранним развитием ИБС медиана 15-минутного значения исходной адгезии составляла 8,3 [5,2; 13,4] мВ, после блокирования GPIIb – 1,7 [1,3; 3,2] мВ, что было на 77% [57,2; 84,6] меньше, чем в первом случае. У пациентов контрольной группы медиана 15-минутного значения исходной адгезии после циркуляции цельной крови без добавления в нее мАт к GPIIb тромбоцитов составляла 12,6 [9,3; 16,7] мВ, после блокирования GPIIb – 10,3 [4,3; 14,8] мВ, что было на 29,5% [-6,9; 59,3] меньше, чем в первом случае. Выраженность изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ у пациентов с ранним развитием ИБС была больше, в сравнении с пациентами контрольной группы ($p < 0,001$). Характерные кривые изменения интенсивности рассеянного лазерного излучения в зависимости от времени циркуляции крови в проточной камере у пациентов с ранним развитием ИБС и у пациентов контрольной группы до и после блокирования GPIIb представлены, соответственно, на рисунках 8а и 8б.

Согласно результатам ROC-анализа, при отрезном значении уменьшения адгезии после блокирования GPIIb тромбоцитов равному 45% достигается оптимальное сочетание чувствительности и специфичности – 86% и 67%, соответственно. Площадь под кривой $0,81 \pm 0,03$ (95% ДИ 0,74-0,87; $p < 0,001$), что позволяет оценить прогностическую силу модели, как очень хорошую (рис. 9).



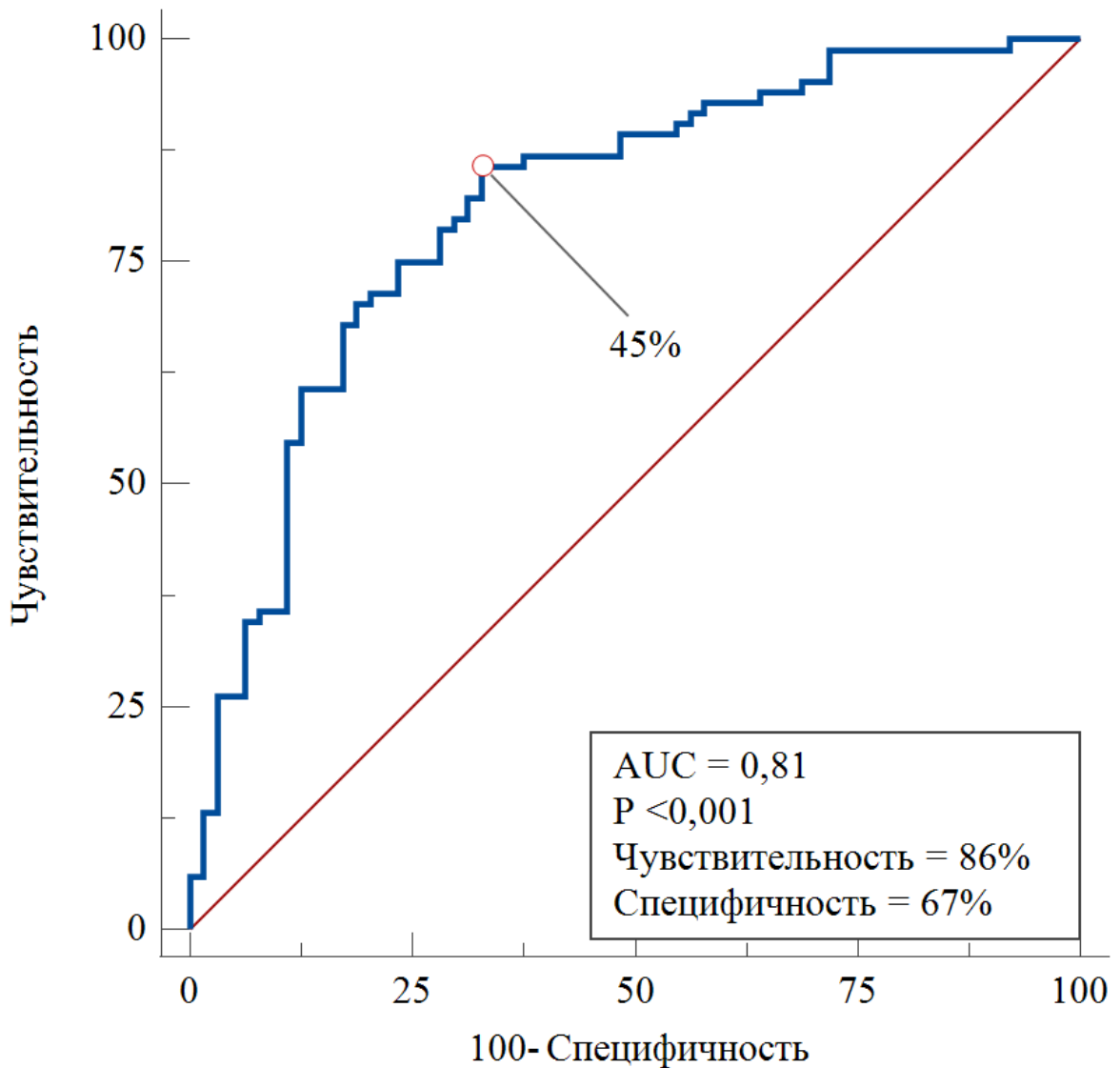
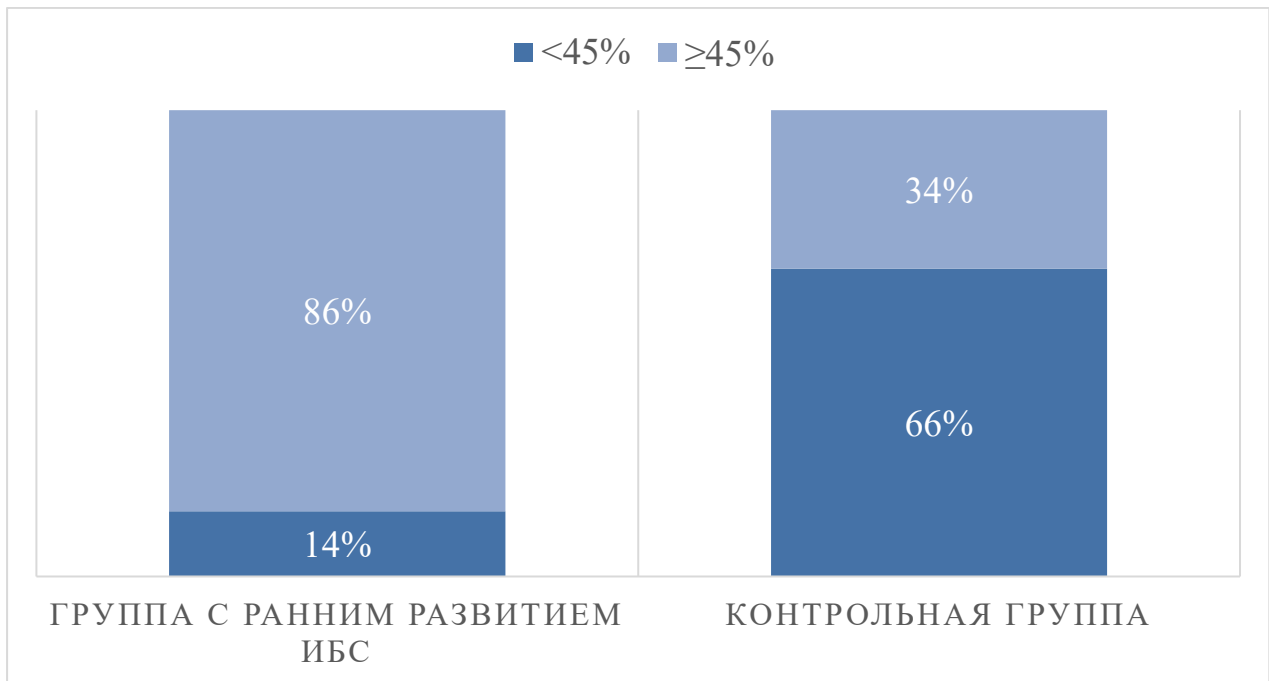


Рис. 9. ROC-кривая для значения выраженности изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ в прогнозировании наличия рано возникшей ИБС

Среди пациентов с ранним развитием ИБС у 14% пациентов выраженность изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ была <45%, у 86% пациентов – \geq 45%. В то время как, среди пациентов контрольной группы у 66% участников исследования выраженность изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ была <45%, у 34% пациентов – \geq 45% (рис. 10).



Исходная адгезия тромбоцитов, адгезия тромбоцитов после блокирования GPIIb, а также выраженность изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ не зависели у пациентов двух исследуемых групп от возраста и наличия таких факторов риска, как неблагоприятная наследственность в отношении ИБС, курение, СД, АГ. Выраженность изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ была выше у мужчин с ранним развитием ИБС в сравнении с женщинами и равнялась 78 [64,2; 84,7] % и 62 [26,7; 78,7] %, соответственно ($p = 0,01$). Выраженность изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ у пациентов контрольной группы не отличалась у мужчин и у женщин.

Зависимости между уровнем ХС ЛНП и ХС ЛВП со значениями исходной адгезии тромбоцитов и значениями адгезии тромбоцитов после блокирования GPIIb у пациентов с ранним развитием ИБС не было выявлено. Корреляционный анализ продемонстрировал слабую отрицательную зависимость между выраженностью изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их

рецепторов GPIIb с ФВ и уровнем ХС ЛВП у пациентов с ранним развитием ИБС ($r = -0,3, p = 0,01$) (рис. 11).

Зависимости между уровнем ХС ЛНП и ХС ЛВП со значениями исходной адгезии тромбоцитов, значениями адгезии тромбоцитов после блокирования GPIIb и выраженностью изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ у пациентов контрольной группы не было выявлено.

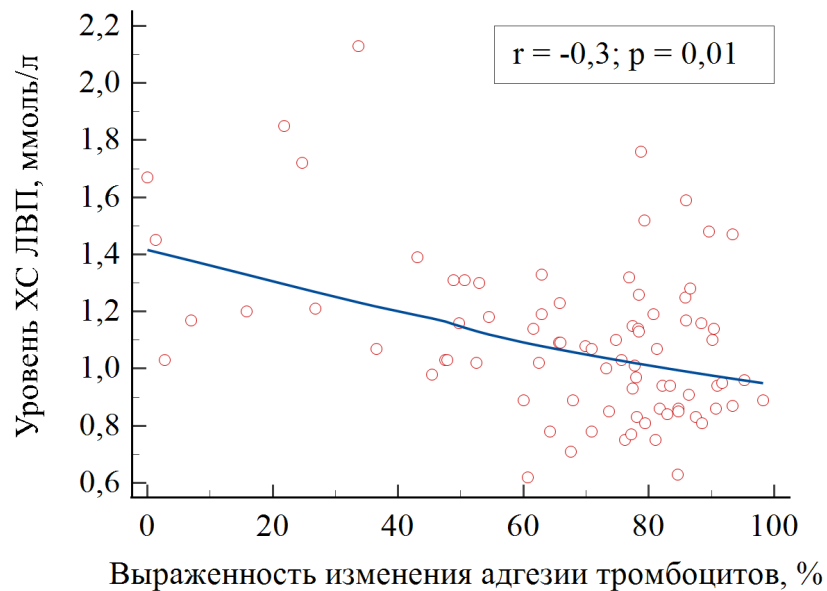


Рис. 11. Корреляционный анализ зависимости связи между уровнем ХС ЛВП и выраженностью изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ у пациентов с ранним развитием ИБС

Клинический пример, демонстрирующий выраженные изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ у пациента с рано возникшей ИБС

Пациент Б., 38 лет поступил в ИКК им. А.Л. Мясникова ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» с жалобами на давящие боли в верхней трети грудины с иррадиацией в нижнюю челюсть, зубы и левую руку, возникающие при физических нагрузках (ходьба до 200 метров), проходящие в покое или после приема нитроглицерина.

В анамнезе: 24 декабря 2021 г. появилась давящая боль за грудиной, несвязанная с физической нагрузкой, иррадирующая в левую и правую руку. За помощью медицинского персонала не обращался. 26 декабря 2021 г. давящая боль стала интенсивней, появилась иррадиация в нижнюю челюсть. 27 декабря 2021 г. был госпитализирован в ГБУЗ научно-исследовательский институт им. Н.В. Склифосовского в г. Москва с диагнозом ОКС с подъемом сегмента ST. По результатам КАГ было выявлено: стенозирование просвета правой коронарной артерии в проксимальной трети до 75%, окклюзирующий тромбоз в средней трети правой коронарной артерии и проксимальный стеноз до 60% в передней нисходящей артерии. Была выполнена транслюминальная баллонная ангиопластика со стентированием среднего сегмента правой коронарной артерии. Был выписан 10 января 2022 г. из стационара в удовлетворительном состоянии с рекомендациями по приему следующей антиагрегантной терапии: тикагрелор 90мг два раза в день, АСК 100мг один раз в день.

14 января 2022 г. вновь возникла давящая боль за грудиной. Был госпитализирован в городскую клиническую больницу им. М.Е. Жадкевича в г. Москва с диагнозом ОКС с подъемом сегмента ST. По результатам КАГ был выявлен окклюзирующий тромбоз в просвете ранее установленного стента в правой коронарной артерии. Проведена транслюминальная баллонная ангиопластика со стентированием правой коронарной артерии.

С начала февраля 2022 года пациент отметил возобновление давящих болей за грудиной.

При осмотре: Состояние средней степени тяжести. Рост 178 см, вес 80 кг. Конституция нормостеническая. Кожные покровы и видимые слизистые обычной окраски. Периферических отеков нет. Область сердца визуально не изменена. Границы относительной тупости сердца не расширены. Тоны сердца ясные, ритм правильный, ЧСС 66 уд/мин, АД 110/60 мм рт.ст. В легких дыхание везикулярное с жестким оттенком, проводится во все отделы, хрипы не выслушиваются, ЧДД 18 в мин. Живот при пальпации мягкий, безболезненный во всех отделах, печень не увеличена. Область почек не изменена, симптом поколачивания по поясничной области отрицательный с двух сторон.

Электрокардиография: Ритм синусовый, ЧСС 56 уд/мин, отклонение электрической оси сердца влево, рубцовые изменения миокарда нижней локализации.

Эхокардиография: Размеры камер сердца не увеличены. Гипокинез базального сегмента нижней стенки с переходом на базальный сегмент задней стенки. Общая сократимость миокарда ЛЖ удовлетворительная, фракция выброса левого желудочка 60%. Нарушение диастолической функции миокарда левого желудочка.

Дуплексное сканирование экстракраниального отдела брахиоцефальных артерий: определяются стенозы до 35% за счет гетерогенных атеросклеротических бляшек в бифуркации брахиоцефального ствола, в правой подключичной артерии с переходом на устье правой позвоночной артерии, в устье правой внутренней сонной артерии, в бифуркации левой общей сонной артерии с переходом на устье внутренней сонной артерии.

Стресс-эхокардиография с физической нагрузкой: Проба на выявление скрытой коронарной недостаточности не доведена до субмаксимальной ЧСС. На максимуме нагрузки (77% от максимальной ЧСС) данных за усугубление, расширение исходной и появление новых зон нарушения локальной сократимости левого желудочка не получено. Толерантность к физической нагрузке средняя. В

течение пробы пациент предъявлял жалобы на дискомфорт в нижней челюсти, купированный приемом нитроглицерина.

КАГ: тип кровоснабжения: правый, ствол левой коронарной артерии и огибающая артерия с неровными контурами, в проксимальном и в среднем сегментах передней нисходящей артерии стенозы до 80%, ранее установленные стенты в правой коронарной артерии проходимы.

16 февраля 2022 г. проведена транслюминальная баллонная ангиопластика со стентированием передней нисходящей артерии в проксимальном и в среднем сегментах.

Анализ крови: в биохимическом анализе крови ХС ЛНП – 0,87 ммоль/л, триглицериды – 7,48 ммоль/л, С-реактивный белок – 1,40 мг/л, D-димер – 0,29 мкг/мл, уровень ФВ – 93,1%, Лп(а) – 9,8 мг/дл; в общем анализе крови и коагулограмме отклонений выявлено не было.

Диагноз: ИБС: стенокардия напряжения 3 функциональный класс. Постинфарктный кардиосклероз (инфаркт миокарда нижней локализации с подъемом сегмента ST от 24.12.2021 г.). Стенозирующий атеросклероз коронарных артерий. Транслюминальная баллонная ангиопластика со стентированием правой коронарной артерии от 27.12.2021 г. Окклюзирующий тромбоз в просвете ранее установленного стента в правой коронарной артерии от 14.01.2022 г. Транслюминальная баллонная ангиопластика со стентированием правой коронарной артерии от 14.01.2022 г. Транслюминальная баллонная ангиопластика со стентированием передней нисходящей коронарной артерии от 16.02.2022 г. Атеросклероз брахиоцефальных артерий. Дислипидемия IIb типа.

Проводилась терапия тикагрелор 90мг 2 раза в день, АСК 100мг 1 раз в день, аторвастатин 20мг 1 раз в день, фенофибрат 145мг 1 раз в день, бисопролол 2,5мг 2 раза в день, периндоприл 2мг 1 раз в день.

Результаты адгезии тромбоцитов представлены на рис. 12.

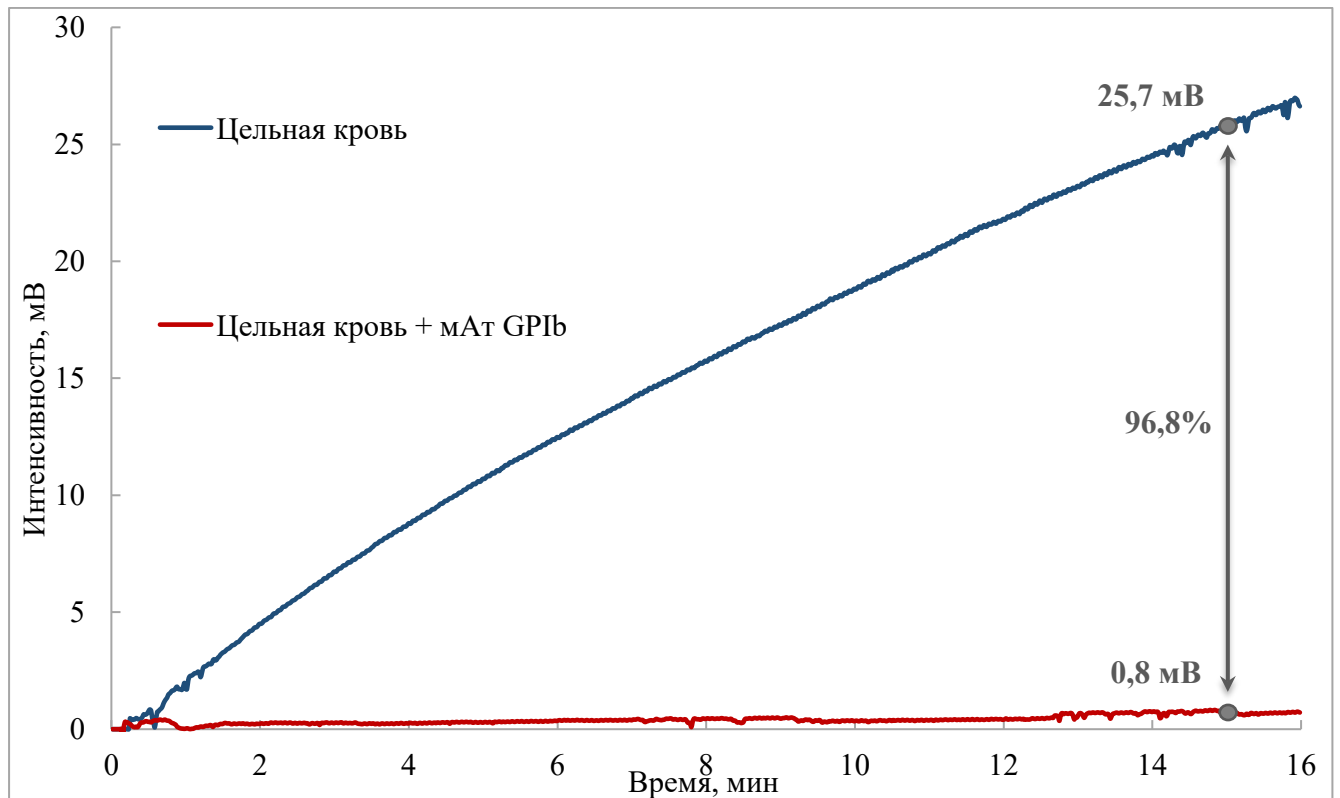


Рис. 12. Кривые изменения интенсивности рассеянного лазерного излучения у пациента Б. 38 лет с ранним развитием ИБС до и после блокирования GPIIb тромбоцитов.

У пациента Б. с ранним развитием ИБС ее первым проявлением было возникновение ИМ. При этом, несмотря на прием АСК в комбинации с тикагрелором, у пациента через 2 недели после проведенной транслюминальной баллонной ангиопластики со стентированием развилась повторная тромботическая окклюзия в месте установки стента. Согласно результатам нашего исследования, медиана исходной адгезии тромбоцитов у пациентов с ранним развитием ИБС составила 8,3 [5,2; 13,4] мВ, тогда как у пациента Б. несмотря на длительный прием двойной антиагрегантной терапии значение исходной адгезии составило 25,7 мВ. Стоит отметить, что пациент является злостным курильщиком с длительным стажем курения (ИК – 28 пачка/лет). Следовательно, крайне высокая выраженность изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ (96,8%) совместно со злостным курением являлись основными выявленными факторами риска раннего развития ИБС и ее осложнений у данного пациента.

Определение исходной адгезии тромбоцитов и выраженности изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIb с ФВ на фоне приема антиагрегантных препаратов с помощью микрофлюидного устройства в условиях высоких скоростей сдвига может помочь выявить пациентов с повышенными рисками тромботических осложнений, обусловленных ФВ-опосредованной адгезией тромбоцитов. Блокирование первичного этапа тромбообразования у таких пациентов может предотвратить развитие тромботических осложнений ИБС.

3.2. Плазменный уровень ФВ

У 84 пациентов с ранним развитием ИБС и у 64 пациентов из группы контроля было проведено сопоставление уровня ФВ в плазме крови. У пациентов с ранним развитием ИБС медиана уровня ФВ в плазме крови равнялась 111 [43; 354] %, у пациентов контрольной группы – 145 [33; 273] %, что было больше ($p = 0,03$), чем у пациентов с ранним развитием ИБС (рис. 13).

При анализе связи между уровнем ФВ и группой крови всех включенных в исследование пациентов было выявлено, что у пациентов с группой крови I (0) уровень ФВ был меньше, чем у пациентов с группами крови II (A), III (B) и IV (AB) (таблица 4).

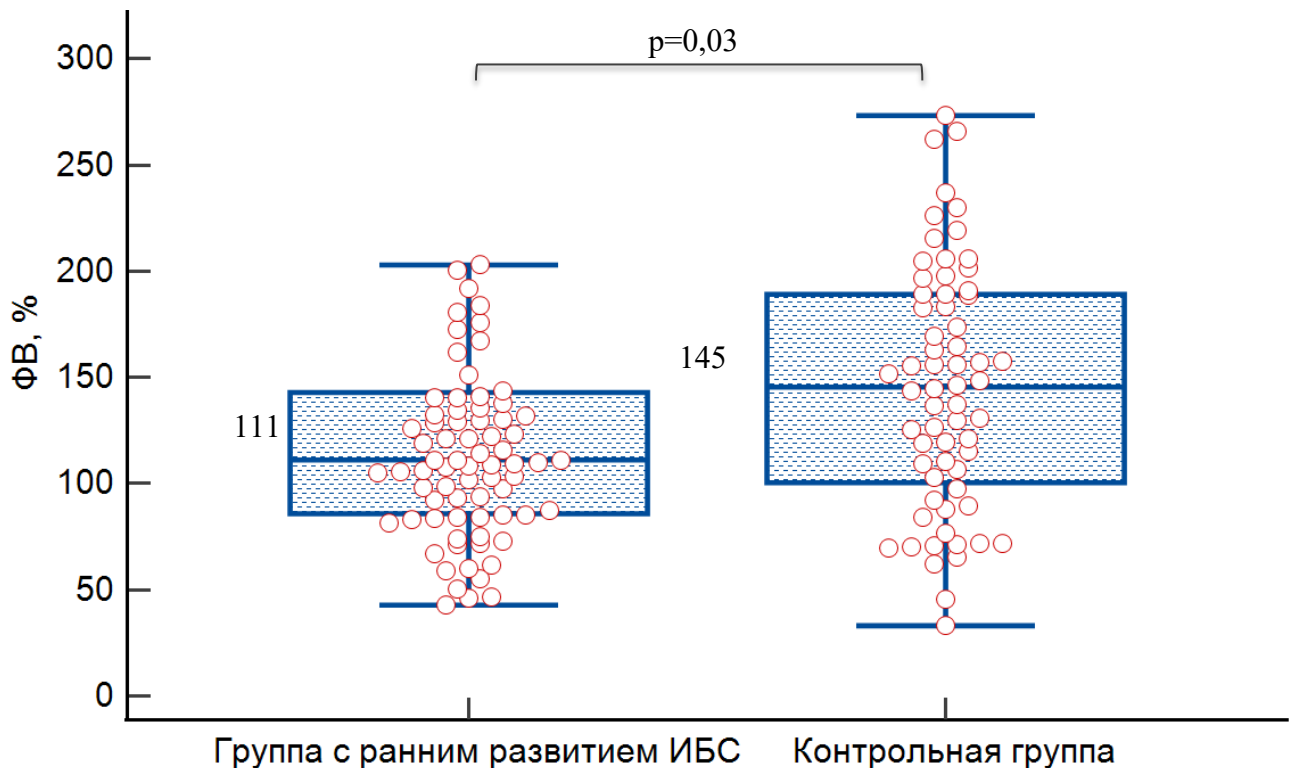


Рис. 13. Уровень ФВ у пациентов с ранним развитием ИБС и у пациентов контрольной группы

Таблица 4. Уровень ФВ в зависимости от группы крови

Группа крови	Число пациентов	ФВ, %
I (O)	44	90,7 [70,7; 129,1]
II (A)	36	112,8 [102,4; 180,8]
III (B)	21	155,6 [130,8; 227,1]
IV (AB)	9	167,4 [135,9; 198,5]
p	-	<0,001

Примечание. ФВ – фактор фон Виллебранда, p – сравнение трех и более независимых групп (критерий Краскела-Уоллиса).

Не было выявлено связи между уровнем ФВ и такими факторами риска ИБС, как мужской пол, возраст (таблица 5), неблагоприятная наследственность в отношении ИБС, курение, СД, низкий уровень ХС ЛВП и повышенный уровень ХС ЛНП. Уровень ФВ был выше ($p = 0,04$) у пациентов с артериальной гипертензией, в сравнении с пациентами без нее, и равнялся, соответственно, 129 [98; 183] % и 110 [75; 132] %. Как у пациентов с ранним развитием ИБС (рис. 14а), так и у пациентов контрольной группы (рис. 14б) уровень ФВ не зависел от режима антиагрегантной терапии.

Корреляционный анализ не продемонстрировал связи между уровнем ФВ и значениями исходной адгезии тромбоцитов, между уровнем ФВ и значениями адгезии тромбоцитов после блокирования GPIb, а также между уровнем ФВ и выраженностью изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIb с ФВ, как у пациентов с ранним развитием ИБС (рис. 15а, 15б, 15в), так и у пациентов контрольной группы (рис. 16а, 16б, 16в).

Таблица 5. Уровень ФВ в зависимости от возраста

Возрастная группа, лет	Число пациентов	ФВ, %
<35	6	90 [45,3; 121,3]
36-40	9	115,2 [90,9; 212,8]
41-45	12	130,9 [88,7; 166,4]
46-50	32	134,1 [104,6; 173,6]
51-55	56	122 [88,4; 160,2]
>55	33	125,5 [96,4; 191,3]
p	-	0,5

Примечание. ФВ – фактор фон Виллебранда, p – сравнение трех и более независимых групп (критерий Краскела-Уоллиса).

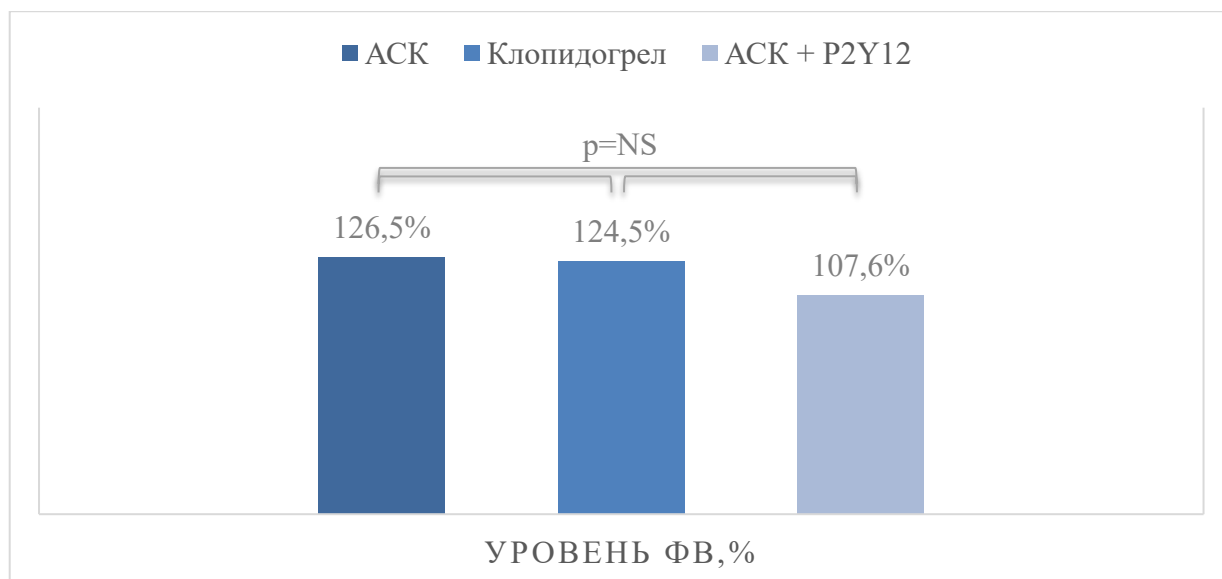


Рис. 14а. Уровень ФВ в зависимости от принимаемой антиагрегантной терапии у пациентов с ранним развитием ИБС

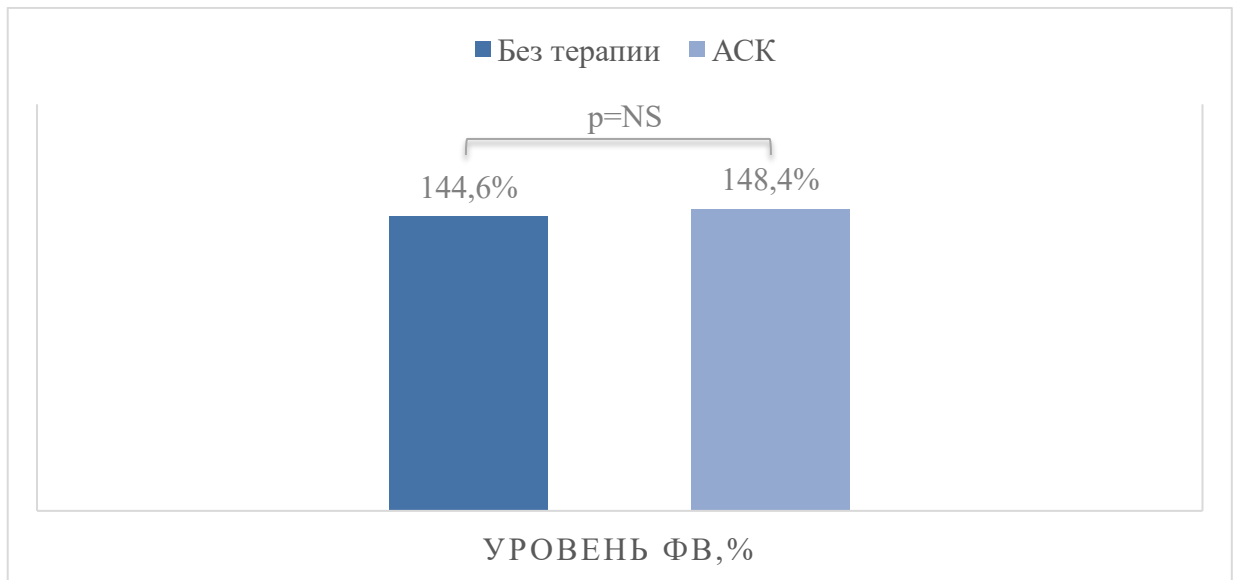


Рис. 14б. Уровень ФВ в зависимости от принимаемой антиагрегантной терапии у пациентов контрольной группы

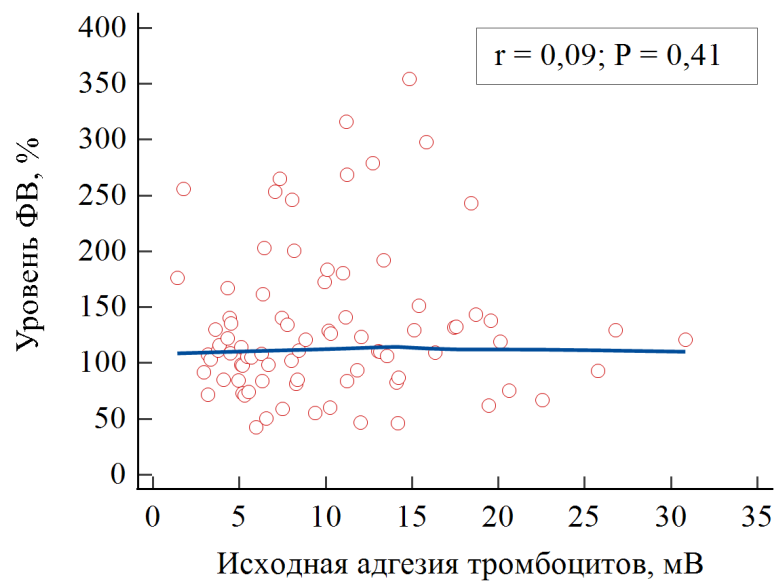


Рис. 15а. Корреляционный анализ связи между уровнем ФВ и значениями исходной адгезии тромбоцитов у пациентов с ранним развитием ИБС

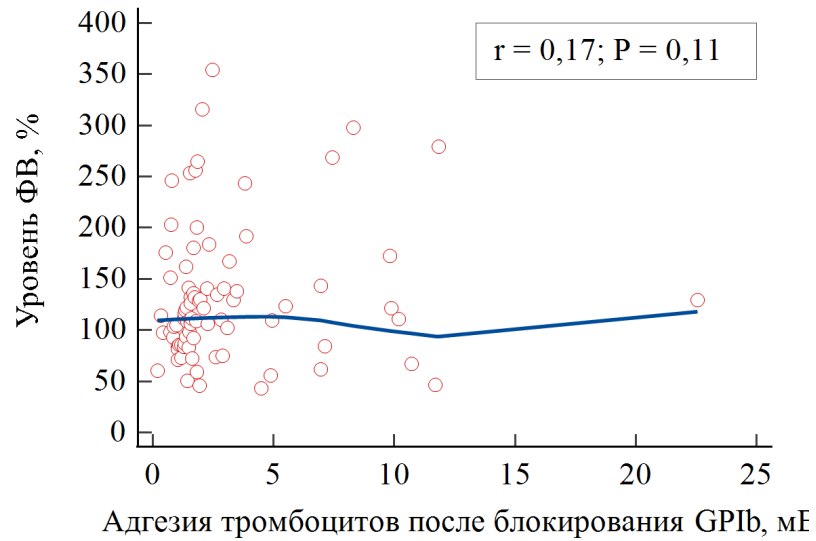


Рис. 15б. Корреляционный анализ связи между уровнем ФВ и значениями адгезии тромбоцитов после блокирования GPIIb у пациентов с ранним развитием ИБС

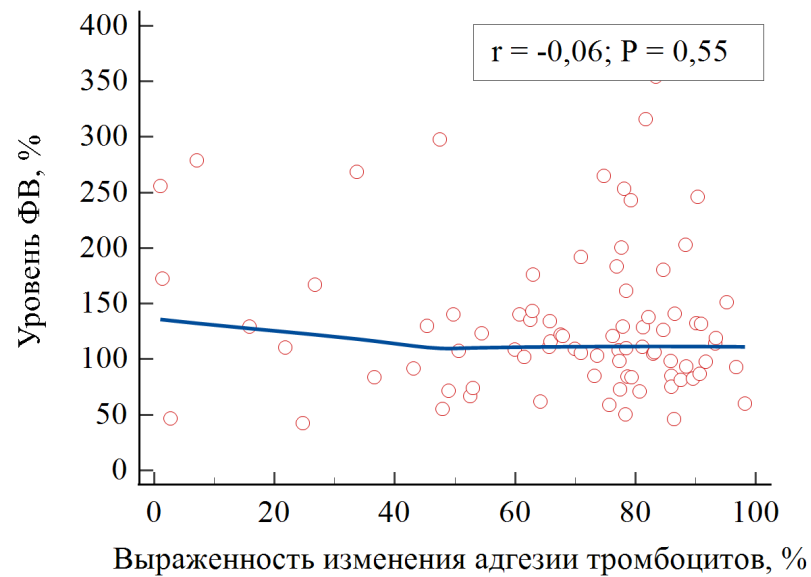


Рис. 15в. Корреляционный анализ связи между уровнем ФВ и выраженностью изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ у пациентов с ранним развитием ИБС

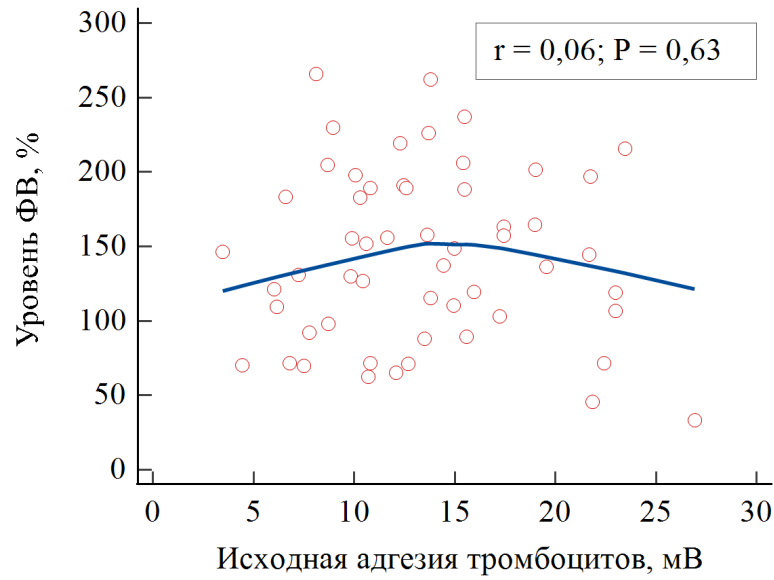


Рис. 16а. Корреляционный анализ связи между уровнем ФВ и значениями исходной адгезии тромбоцитов у пациентов контрольной группы

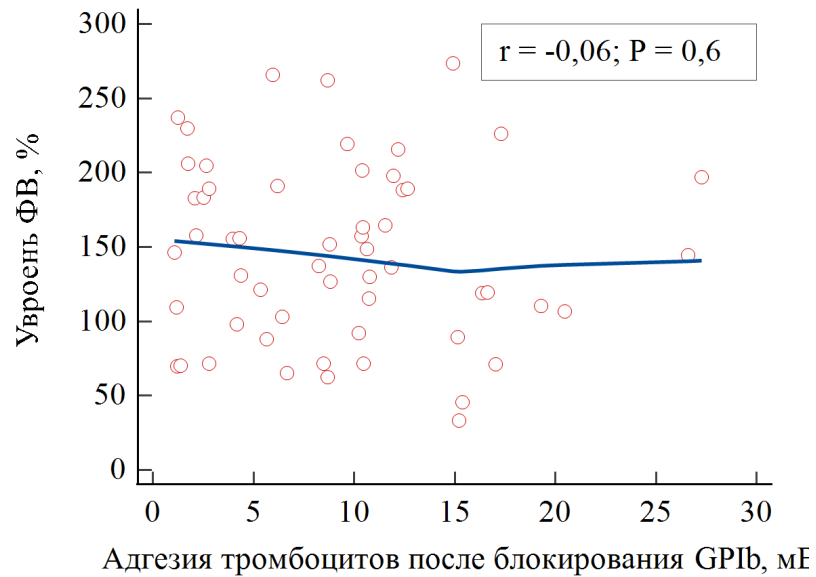


Рис. 16б. Корреляционный анализ связи между уровнем ФВ и значениями адгезии тромбоцитов после блокирования GPIIb у пациентов контрольной группы

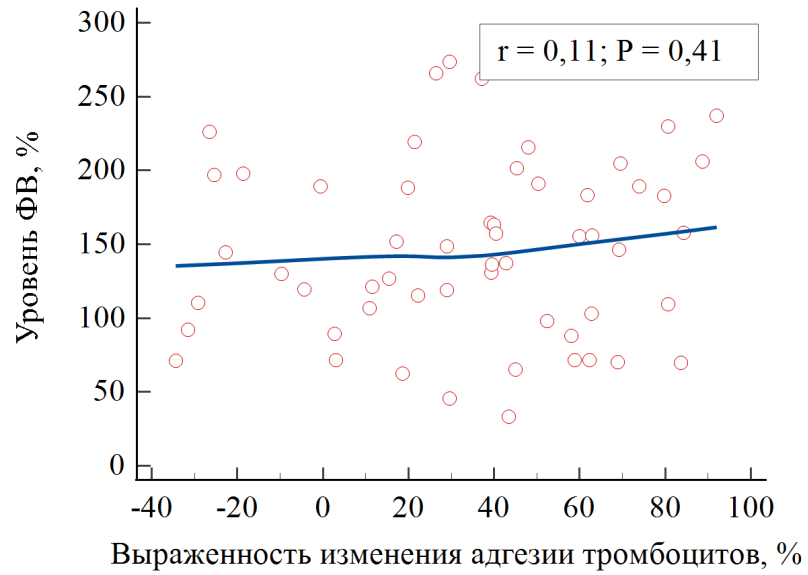


Рис. 16в. Корреляционный анализ связи между уровнем ФВ и выраженностью изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIb с ФВ у пациентов контрольной группы

3.3. Влияние антиагрегантной терапии на ФВ-опосредованную адгезию тромбоцитов при повышенной скорости сдвига

В группе пациентов с ранним развитием ИБС антиагрегантную терапию принимали 84 пациента. 22 пациента получали АСК, 10 пациентов – блокатор P2Y₁₂ рецепторов тромбоцитов клопидогрел, 41 пациент – клопидогрел в сочетании с АСК, 11 пациентов – блокатор P2Y₁₂ рецепторов тромбоцитов тикагрелор в сочетании с АСК. У пациентов с ранним развитием ИБС, которые принимали АСК медиана исходной адгезии тромбоцитов была равна 12 [9,9; 14,8] мВ, что было выше, чем у пациентов, принимавших клопидогрел, у которых медиана исходной адгезии тромбоцитов была равна 6,2 [4,5; 7,5] мВ ($p = 0,004$), или у пациентов, принимавших двойную антиагрегантную терапию (АСК + ингибитор P2Y₁₂), у которых медиана исходной адгезии тромбоцитов была равна 7,7 [5; 13,6] мВ ($p = 0,02$) (рис. 17а). У пациентов с ранним развитием ИБС, которые принимали АСК, медиана адгезии тромбоцитов после блокирования GPIIb рецепторов была равна 3,2 [1,5; 7,4] мВ, что было выше, чем у пациентов принимавших клопидогрел, у которых медиана адгезии тромбоцитов после блокирования GPIIb рецепторов была равна 1,8 [0,7; 2,9] мВ ($p = 0,04$), или у пациентов принимавших двойную антиагрегантную терапию, у которых медиана адгезии тромбоцитов после блокирования GPIIb рецепторов была равна 1,6 [1,2; 2,2] мВ ($p = 0,006$) (рис. 17а). Выраженность изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ у пациентов с ранним развитием ИБС не зависела от режима антиагрегантной терапии и составила 67,7 [47,9; 83,3] % у пациентов, принимавших АСК, 69,5 [60,7; 79,2] % у пациентов, принимавших клопидогрел и 77,9 [63,5; 85,2] % у пациентов, принимавших двойную антиагрегантную терапию (рис. 17б).

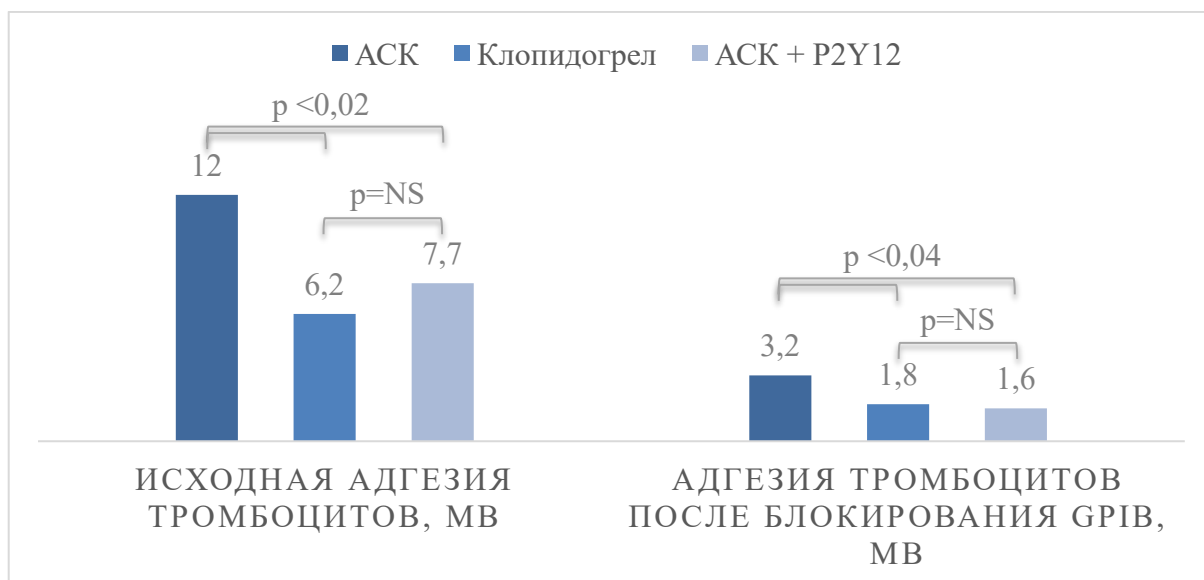


Рис. 17а. Адгезия тромбоцитов до и после блокирования GPIIb рецепторов у пациентов с ранним развитием ИБС в зависимости от режима антиагрегантной терапии

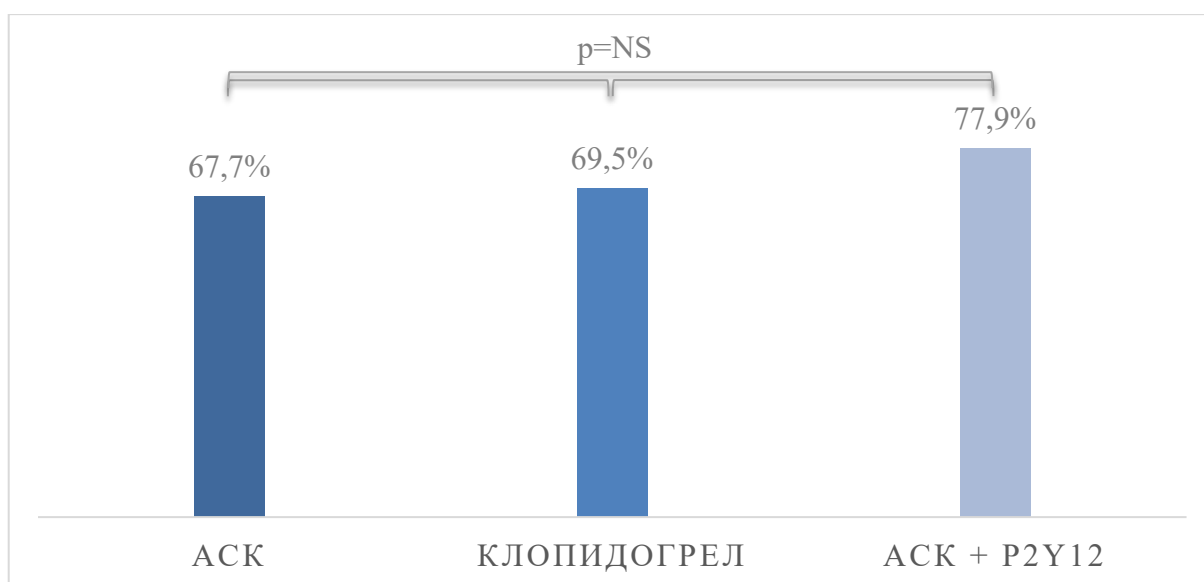


Рис. 17б. Выраженность изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ у пациентов с ранним развитием ИБС в зависимости от режима антиагрегантной терапии

В контрольной группе антиагрегантную терапию принимали 11 пациентов. Все они получали АСК. Остальные 53 пациента не получали антиагрегантной терапии. У пациентов контрольной группы, принимавших АСК, исходная адгезия тромбоцитов не отличалась от таковых пациентов без антиагрегантной терапии и равнялась, соответственно, 12,6 [9,9; 15,5] мВ и 13,3 [9,5; 17,3] мВ ($p = 0,6$) (рис. 18а). У пациентов контрольной группы, которые принимали АСК, адгезия тромбоцитов после блокирования GPIIb не отличалась от адгезии тромбоцитов после блокирования GPIIb у пациентов без антиагрегантной терапии и равнялась, соответственно, 10,6 [3,5; 14,9] мВ и 9,6 [4,3; 14,5] мВ ($p = 0,9$) (рис. 18а). Выраженность изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ у пациентов контрольной группы, которые принимали АСК, не отличалась от выраженности изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ у пациентов, не принимавших антиагрегантной терапии и равнялась, соответственно, 22,2 [-34,3; 39,4] % и 37,1 [-1,4; 59,1] % (рис. 18б).

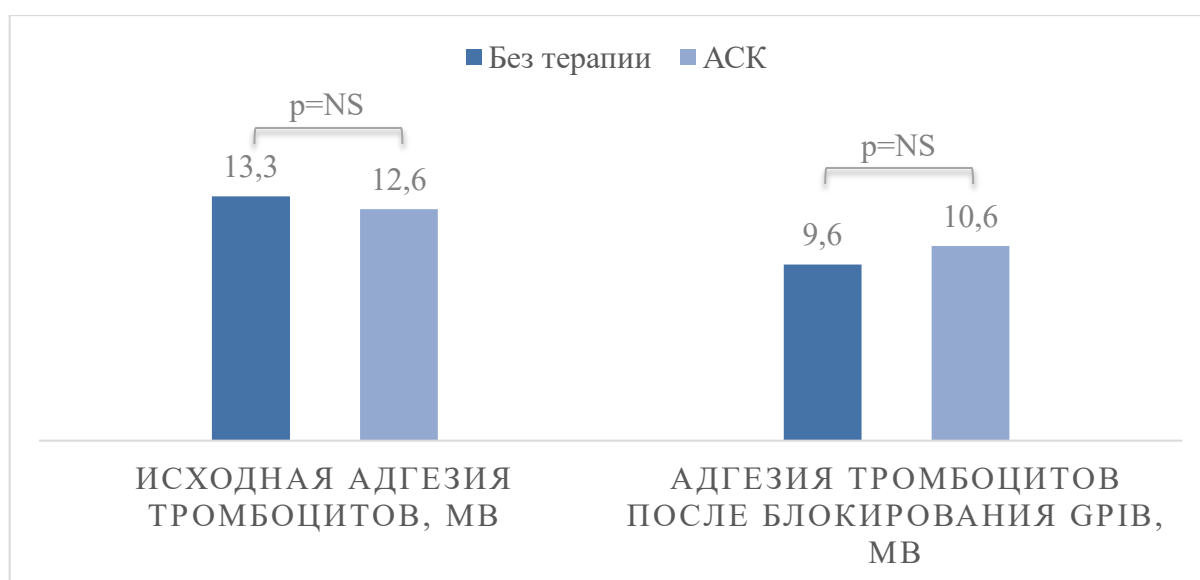


Рис. 18а. Адгезия тромбоцитов до и после блокирования GPIIb у пациентов контрольной группы в зависимости от приема ацетилсалициловой кислоты

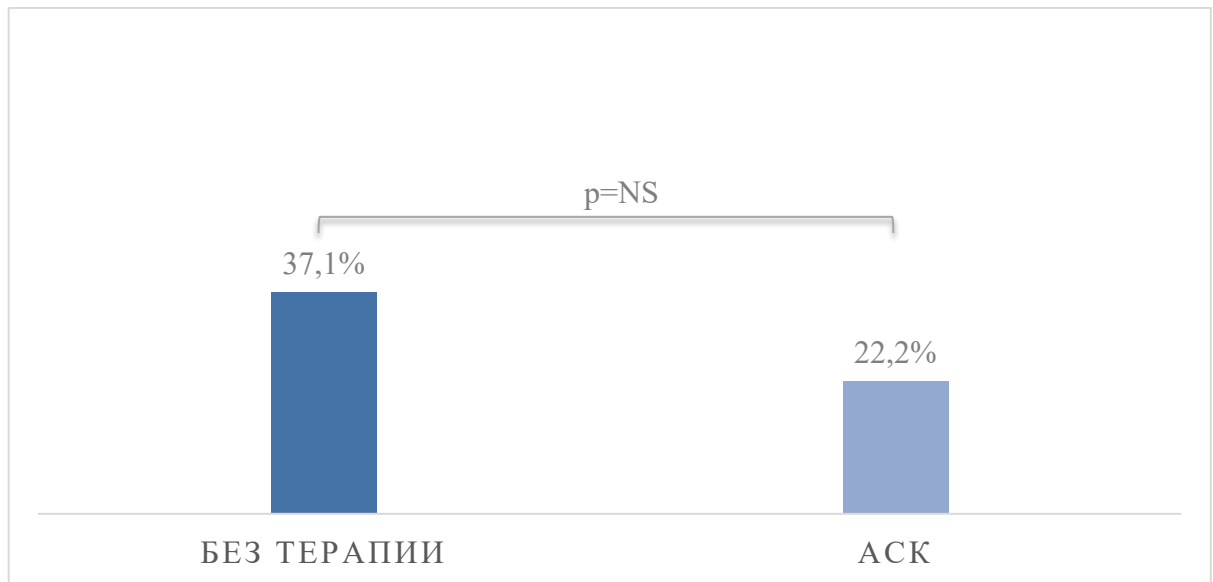


Рис. 186. Выраженность изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ у пациентов контрольной группы в зависимости от приема ацетилсалициловой кислоты

3.4. Сравнительный анализ факторов, связанных с рано возникшей ИБС

Согласно однофакторному логистическому регрессионному анализу, злостное курение, выраженность изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ $\geq 45\%$, мужской пол, СД, уровень ХС ЛВП < 1 ммоль/л у мужчин и $< 1,2$ ммоль/л у женщин, курение, а также возраст являлись факторами, связанными с повышенной вероятностью выявления ИБС у мужчин в возрасте до 55 лет и у женщин в возрасте до 65 лет (таблица 6).

Многофакторный логистический регрессионный анализ показал, что злостное курение, выраженность изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ $\geq 45\%$, мужской пол и возраст являются независимыми факторами, связанными с повышенной вероятностью выявления ИБС у мужчин в возрасте до 55 лет и у женщин в возрасте до 65 лет (таблица 7).

Таблица 6. Однофакторный логистический регрессионный анализ для оценки связи факторов с вероятностью выявления ИБС у мужчин в возрасте до 55 лет и у женщин в возрасте до 65 лет

Переменная	Отношение шансов	95% доверительный интервал	p
Выраженность изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ $\geq 45\%$	11,4	5,1 - 25,5	<0,001
Злостное курение	10	3,6 - 27,7	<0,001
Мужской пол	4,1	2 - 8,2	<0,001
Сахарный диабет	3,2	1,1 - 9,2	0,02

Продолжение таблицы 6. Однофакторный логистический регрессионный анализ для оценки связи факторов с вероятностью выявления ИБС у мужчин в возрасте до 55 лет и у женщин в возрасте до 65 лет

Переменная	Отношение шансов	95% доверительный интервал	p
ХС ЛВП <1 ммоль/л у мужчин и <1,2 ммоль/л у женщин	3	1,4 - 6,3	0,003
Курение	2,8	1,4 - 5,6	0,002
Возраст	1,4	1,1 - 1,9	0,004
Неблагоприятная наследственность в отношении ИБС	2	0,9 - 4,7	0,07
Артериальная гипертензия	1,9	0,7 - 4,9	0,1
ХС ЛНП >3 ммоль/л	1,5	0,7 - 3	0,3

Примечание. ИБС – ишемическая болезнь сердца; злостное курение – индекс курильщика ≥ 25 пачка/лет; GPIb – гликопротеин Ib; ХС ЛНП – холестерин липопротеидов низкой плотности; ХС ЛВП – холестерин липопротеидов высокой плотности.

Таблица 7. Многофакторный логистический регрессионный анализ для оценки связи факторов с вероятностью выявления ИБС у мужчин в возрасте до 55 лет и у женщин в возрасте до 65 лет

Переменная	Отношение шансов	95% доверительный интервал	p
Выраженность изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIb с ФВ $\geq 45\%$	6,3	2,4 - 16,2	<0,001
Злостное курение	6,1	1,4 - 25,4	0,01
Мужской пол	3,4	1,2 - 10	0,02

Продолжение таблицы 7. Многофакторный логистический регрессионный анализ для оценки связи факторов с вероятностью выявления ИБС у мужчин в возрасте до 55 лет и у женщин в возрасте до 65 лет

Переменная	Отношение шансов	95% доверительный интервал	p
Возраст	1,1	1 - 1,14	0,02
Сахарный диабет	2,2	0,9 - 5,8	0,09
ХС ЛВП <1 ммоль/л у мужчин и <1,2 ммоль/л у женщин	2,1	0,5 - 8,9	0,3
Курение	0,7	0,2 - 2,4	0,6

Примечание. ИБС – ишемическая болезнь сердца; злостное курение – индекс курильщика ≥ 25 пачка/лет; ГРІb – гликопротеин Ib; ХС ЛВП – холестерин липопротеидов высокой плотности.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Пациенты с ранним развитием ИБС, по данным проведенных исследований, составляют от 1,3% до 6% от всего количества пациентов с ИБС. В отдельных этнических группах этот показатель может достигать 26,5% [4, 35, 226, 227]. Gupta A. и соавт. продемонстрировали, что в США с 2001 по 2010 год не наблюдается снижения числа госпитализаций по поводу ИМ среди молодых людей в возрасте 30-54 лет [228]. По результатам исследования ARIC, общая доля госпитализаций пациентов в возрасте 35-54 лет по поводу ИМ увеличилась с 27% в 1995-1999 годах до 32% в 2010-2014 годах. Наибольший рост госпитализаций наблюдался у молодых женщин [229]. С учетом этих фактов, актуальным является выявление и воздействие (с целью осуществления профилактических мер) на основные факторы, способствующие возникновению ИБС в молодом возрасте, в конкретных группах населения. Актуальным является так же выявление иных, чем традиционные факторы риска ИБС, факторов, на которые могло бы быть осуществлено воздействие, как в настоящий момент, так и в перспективе.

В настоящее исследование включались пациенты с ранним развитием ИБС, к которой, согласно общепринятым рекомендациям, относят ИБС, возникшую в возрасте ≤ 55 лет у мужчин или в возрасте ≤ 65 лет у женщин [30-33]. Во многих работах по изучению пациентов с ранним возникновением ИБС возрастные границы включенных в исследования пациентов отличались от этих критериев и равнялись 35-65 годам. Во многих исследованиях не было так же возрастных различий в критериях включения для мужчин и для женщин, что затрудняет сопоставление результатов проведенных исследований. Следует отметить, что в подавляющем большинстве исследований, изучающих пациентов с ранним возникновением ИБС, включались пациенты с ОКС или ИМ и не включались пациенты со стабильной ИБС.

Согласно результатам настоящего исследования, 73,8% пациентов с ранним развитием ИБС являлись мужчинами, что было почти в 4 раза чаще, в сравнении с

женщинами. У пациентов с ранним развитием ИБС наиболее часто обнаруживали АГ (в 89,3% случаев), ХС ЛНП >3 ммоль/л (в 73,8% случаев) и курение (в 63,1% случаев). Среди курильщиков 71,7% пациентов являлись злостными курильщиками.

В ранее проведенных исследованиях так же сообщается о более частом обнаружении рано развившейся ИБС у мужчин (в 72,3-94,8% случаев), в сравнении с женщинами [38, 50]. Частота обнаружения СД, неблагоприятной наследственности и курения в нашем исследовании сопоставима с частотой обнаружения этих факторов в ранее опубликованных работах. СД выявляли у 2,2-27% пациентов с ранним развитием ИБС [51, 53], неблагоприятную наследственность – у 19,8-62,3% пациентов [49, 50], курение – у 52,9-92,5% пациентов [2, 45]. В отличии от настоящего исследования АГ в ранее опубликованных работах встречалась реже – в 20,3-75,9% случаев [34, 48]. О частоте обнаружения ХС ЛНП >3 ммоль/л и низких уровнях ХС ЛВП в ранее проведенных работах не сообщается. В исследованиях оценивалось наличие гиперлипидемии, которая встречалась в 26,3%-86% случаях [49, 65]. Различные критерии включения в исследования, касающихся пациентов с ранним развитием ИБС, затрудняют сравнительный анализ частоты обнаружения ее факторов риска ИБС. Например, распространенность АГ и СД увеличивается с возрастом, поэтому среди более молодых пациентов эти факторы будут встречаться реже. Несмотря на это, в подавляющем числе ранее проведенных исследований показано, что мужской пол и курение встречаются чаще других факторов риска среди пациентов с ранним развитием ИБС.

ИМ, как первое проявление ИБС, в нашем исследовании встречался в 57,2% случаев. Частота возникновения ИМ не отличалась у мужчин и у женщин. В ранее опубликованных работах сообщается о частоте ИМ, как первого проявления у пациентов с ранним развитием ИБС, в 36,7-78,8% случаев [34, 35, 72]. Было так же показано, что частота возникновения ИМ у пациентов с ранним развитием ИБС связана с их возрастом [2].

В нашем исследовании у пациентов с ранним развитием ИБС одинаково часто встречались поражения одной, 2-х и 3-х МКА. В ранее проведенных исследованиях сообщается о более частом обнаружении поражения одной МКА у подобных пациентов [4, 35, 36, 44]. Это отличие возможно связано с тем, что в ранее проведенные исследования включались пациенты в момент первых клинических проявлений заболевания, тогда как в это исследование вошли пациенты через несколько лет после первой манифестации ИБС. По данным настоящего исследования, у пациентов с ранним развитием ИБС атеросклеротическое поражение артерий, стенозирующее их просвет на 50% и более, чаще встречалось в передней нисходящей артерии, что согласуется с результатами других исследований [4, 35, 36, 44].

В подавляющем большинстве исследований, в которых изучалась связь между ИБС и ФВ, проводилось измерение его уровня в плазме крови с помощью ИФА. Эти исследования показали, что у пациентов с высоким уровнем ФВ относительный риск развития ИБС и неблагоприятных сердечно-сосудистых событий был выше, чем у лиц контрольных групп [8-11, 163-166, 168]. Однако после поправки на традиционные факторы риска повышенный уровень ФВ не влиял на возникновение ИБС и мало влиял на прогнозирование неблагоприятных сердечно-сосудистых событий [9, 169, 171].

Исследования по оценке связи между уровнем ФВ и ИБС у пациентов с ранним ее развитием немногочисленны и противоречивы. В исследовании van Loon J.E. и соавт. уровень ФВ с у пациентов с ранним развитием ИБС не отличался от такового у пациентов контрольной группы, и не был связан, по данным восьмилетнего наблюдения, с возникновением смерти от всех причин и повторного ИМ [12]. Ряд других исследований так же не обнаружили связи между уровнем ФВ и ранним развитием ИБС [13-15]. В противоположность этому, опубликованы исследования, в которых уровень ФВ был выше у пациентов с ранним развитием ИБС, в сравнении с пациентами контрольной группы, и являлся дополнительным фактором риска развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий [16, 17].

Согласно результатам настоящего исследования, у пациентов с ранним развитием ИБС медиана уровня ФВ в плазме крови была равна 111 [43; 354] %, что было меньше, чем у пациентов контрольной группы, где медиана уровня ФВ была равна 145 [33; 273] %. Уровень ФВ может меняться у одного и того же человека в разные периоды времени в широком диапазоне [127, 128]. Уровень ФВ зависит от возраста, курения, сопутствующих заболеваний (АГ, СД), наличия воспаления, приема лекарственных препаратов (диуретиков, дигоксина, гепарина, пероральных антикоагулянтов), группы крови и даже от физической нагрузки [10, 129-131, 161, 189, 191]. С учетом этого, представляется малоперспективным проводить измерение уровня ФВ для прогнозирования возникновения ИБС.

Уровень ФВ в крови в настоящем исследовании не был связан с адгезией тромбоцитов до и после блокирования их GPIIb рецепторов. Это подтверждает, что не уровень ФВ, а его функциональное состояние критически важно для формирования артериального тромба на начальном этапе. ИФА показывает содержание в плазме крови всех мультимеров ФВ, от СБМ до мультимеров, состоящих из нескольких димеров. Расщепление СБМ ФВ на более мелкие составляющие существенно влияет на его гемостатическую функцию. При этом общее содержание ФВ в крови не будет изменяться. СБМ ФВ являются самыми активными формами ФВ. Чем больше СБМ ФВ в кровотоке, тем более активно будет происходить ФВ-опосредованная адгезия и последующая агрегация тромбоцитов. Пациенты с ранним развитием ИБС могут иметь избыток таких СБМ ФВ в кровотоке, что может приводить к усиленному тромбообразованию, в том числе, за счет спонтанной активации ФВ, как это происходит у пациентов с ТТП. Часть пациентов могут иметь мутации, кодирующие способность ФВ активироваться при более низких скоростях сдвига, как у пациентов с БВ 2В типа и БВ тромбоцитарного типа, что продемонстрировал Ikeda Y. и соавт. [230]. ФВ может иметь повышенную аффинность к рецепторам GPIIb и/или эндотелиальному коллагену, что также может приводить к повышенной склонности к тромбообразованию. Причины, приводящие к таким изменениям, требуют дальнейшего изучения.

«Золотым» стандартом измерения активности ФВ является ристоцетин-кофакторная активность [127]. При проведении анализа используют антибиотик ристоцетин, который индуцирует связывание рецепторов GPIb тромбоцитов с доменом A1 ФВ [109]. Таким образом, взаимодействие рецепторов GPIb тромбоцитов с ФВ происходит под действием химического агента, что радикально отличается от того, что происходит в человеческом организме. PFA-100, получивший наибольшую распространённость в диагностике БВ, оценивает первичный гемостаз, а не только функциональное состояние ФВ. Рецепторы тромбоцитов к коллагену – GPVI и GPIa/IIa могут так же играть роль в адгезии тромбоцитов к мембране, а время закрытия зависит не только от тромбоцитов, но и от других клеток крови [135, 136]. Основным методом определения уровня СБМ ФВ является электрофорез ФВ на агарозных гелях [109, 127]. Однако такой анализ технически сложен для выполнения и предъявляет высокие требования к компетентности лабораторного персонала, поэтому не получил широкого распространения и не был внедрен в рутинную лабораторную практику. Наряду с общепринятыми методами оценки системы гемостаза, в настоящее время осуществляется разработка и использование новых методов диагностики нарушений отдельных звеньев этого сложного, многокомпонентного процесса, в том числе, направленных на оценку функциональной активности ФВ в условиях максимально приближенных к естественным [24, 98, 103, 197, 198].

В нашем исследовании использовалось микрофлюидное устройство, имитирующее ток крови в артерии небольшого диаметра (такой, как коронарная артерия), имеющей умеренное стенозирование и обнаженный коллаген [23]. При добавлении в образцы циркулирующей крови мАт к GPIb тромбоцитов оценивалась ФВ-опосредованная адгезия тромбоцитов к коллагену. Исследований по оценке адгезии тромбоцитов, опосредованной ФВ, у пациентов с ранним развитием ИБС до сих пор не проводилось.

Повышение внутриклеточного Ca^{2+} в тромбоцитах запускает процессы их активации (дегрануляция различных активных молекул, активация GPIIb/IIIa, реорганизация актинового цитоскелета и т.д.). Повышение внутриклеточного Ca^{2+}

в тромбоцитах происходит за счет высвобождения Ca^{2+} из их внутриклеточных запасов и поступления внеклеточного Ca^{2+} через плазматическую мембрану. Уменьшение внеклеточного Ca^{2+} приводит к снижению тромбообразования в условиях потока [231]. Во многих исследованиях по изучению агрегации и адгезии тромбоцитов *ex vivo* в качестве антикоагулянта использовали цитрат натрия. Он снижает концентрацию внеклеточного Ca^{2+} . Забор крови для сохранения физиологической концентрации Ca^{2+} в настоящем исследовании проводили в пробирки, содержащие РРАСК. РРАСК является хелатирующим кальций, селективным ингибитором тромбина. Как показало исследование Rebello S.S. и соавт., уровень внеклеточного Ca^{2+} в исследуемых образцах крови *ex vivo* в 16-19 раз были выше при использовании РРАСК в качестве антикоагулянта, по сравнению с цитратом натрия [232].

GPIb тромбоцитов является единственным рецептором на неактивированном тромбоците с крайне высоким сродством ФВ. ФВ является связующим звеном между субэндотелиальным коллагеном и тромбоцитами. ФВ способен менять свою конформацию с глобулярной формы на развернутую, активируясь и открывая свои сайты связывания для взаимодействия с рецепторами тромбоцитов под действием высоких скоростей сдвига. Значения скоростей сдвига, необходимые для изменения ФВ с глобулярной конформации на развернутую составляют 1000-5000 c^{-1} . Скорости сдвига, достигаемые в микрофлюидном устройстве в настоящем исследовании, составляли $\approx 1300 \text{ c}^{-1}$, что было достаточно для разворачивания ФВ. Данный показатель рассчитан при использовании богатой тромбоцитами плазмы. Произвести точный расчет показателей скорости сдвига для цельной крови не представляется возможным в связи с тем, что не существует нужных формул.

Циркуляция крови в проточной камере сопровождалась взаимодействием ФВ с коллагеновой подложкой, что приводило к адгезии тромбоцитов к ней и, как следствие этого, увеличивало интенсивность рассеивания, направленного на поверхность камеры лазерного излучения. Добавление мАт к рецепторам GPIb тромбоцитов в образцы циркулирующей крови приводило к снижению адгезии и уменьшению рассеивания лазерного излучения. Было обнаружено значительное

отличие в выраженности изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ у пациентов с ранним развитием ИБС и у пациентов без этого заболевания. У пациентов с ранним развитием ИБС медиана снижения адгезии тромбоцитов после блокирования рецепторов GPIIb равнялась 77%, тогда как у пациентов без ИБС – 29,5% ($p < 0,001$). Исходя из этого, можно предположить, что «вклад» взаимодействия ФВ с рецепторами GPIIb тромбоцитов в адгезию тромбоцитов у пациентов с ранним развитием ИБС выше, чем у пациентов без ИБС [233].

Тромбоцит содержит большое количество различных рецепторов, которые участвуют в его адгезии и агрегации (рис. 19). Взаимодействие рецепторов тромбоцитов (GPIIb, GPIIb, GPIIb/IIIa) с эндотелиальным коллагеном приводит к внутриклеточной передаче сигналов, увеличению внутриклеточного Ca^{2+} и активации тромбоцитов, что приводит к их конформационным изменениям и дегрануляции содержимого цитоплазматических гранул (ФВ, факторов свертывания крови V и XIII, P-селектина, АДФ, Ca^{2+} , тромбоксана A₂, тромбина). Эти изменения приводят к рекрутированию и активации соседних тромбоцитов. После активации тромбоцита рецептор GPIIb/IIIa, претерпевая конформационные изменения, становится высокоаффинным, что приводит к связыванию GPIIb/IIIa с фибриногеном и ФВ, усиливая связи между тромбоцитами и стабилизируя агрегацию [234].

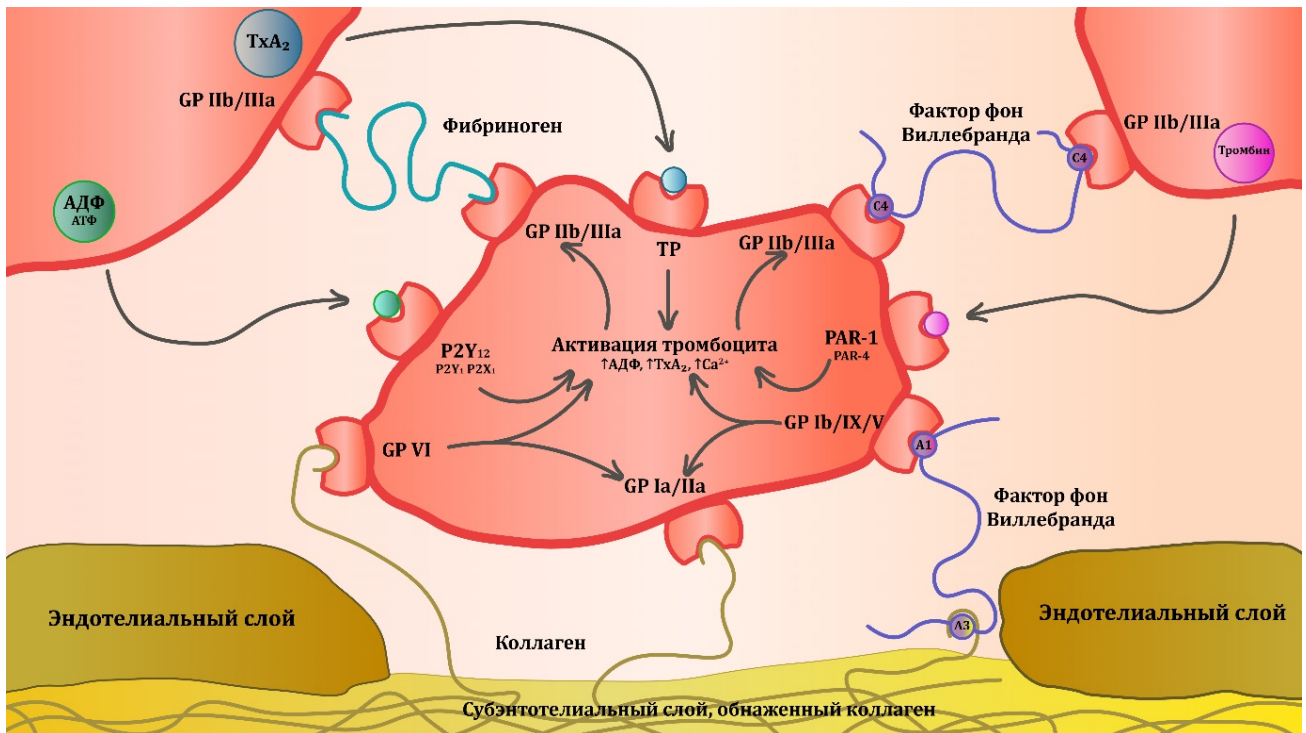


Рис. 19. Рецепторы тромбоцита, участвующие в адгезии, агрегации и активации.

Примечание. GP – гликопротеин; АДФ – аденозиндифосфат; АТФ – аденозинтрифосфат; ТxA₂ – тромбоксан А₂; P2Y₁₂, P2Y₁, P2X₁ – группа мембранных рецепторов тромбоцита взаимодействующие с АДФ и/или АТФ; PAR-1 и PAR-4 – группа мембранных рецепторов тромбоцита взаимодействующие с тромбином; А1, А3, С4 – домены фактора фон Виллебранда.

На тромбообразование воздействуют биохимические агенты и реологические свойства крови (биомеханический путь). Основные лекарственные средства, широко используемые для вторичной профилактики ИБС, являются препаратами, угнетающими агрегацию тромбоцитов, воздействуя на биохимический путь образование тромба (рис. 20). АСК снижает синтез тромбоксана А₂ в тромбоцитах. Клопидогрел, тикагрелор и прасугрел ингибируют связывание рецепторов P2Y₁₂ тромбоцитов с АДФ. Абциксимаб, эптифибатид и тирофибан являются ингибиторами рецепторов GP IIb/IIIa тромбоцитов. Атопаксар и ворапаксар, не получившие столь же широкого применения, как АСК и клопидогрел, являются антагонистами PAR-рецепторов тромбоцитов.

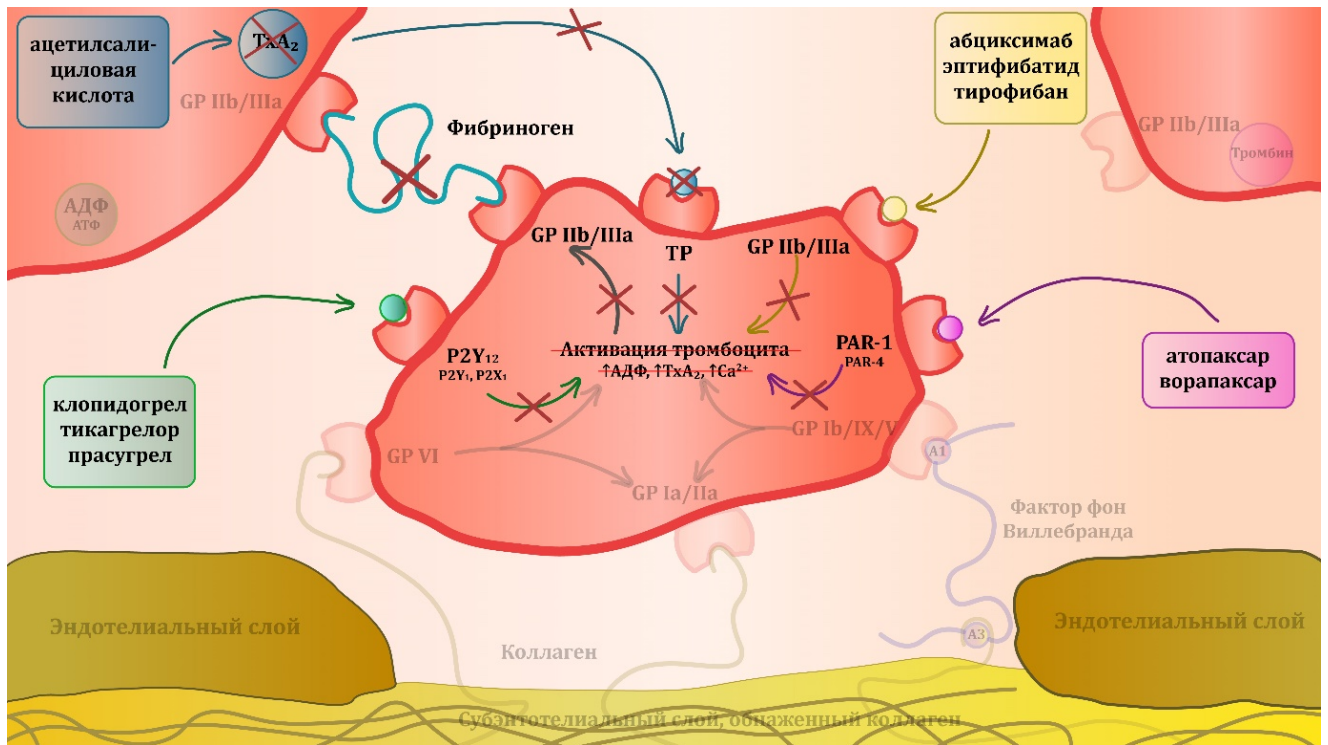


Рис. 20. Схематическое изображение тромбоцита и точки приложения антиагрегантов.

Примечание. GP – гликопротеин; АДФ – аденозиндифосфат; АТФ – аденозинтрифосфат; ТхА₂ – тромбоксан А₂; P2Y₁₂, P2Y₁, P2X₁ – группа мембранных рецепторов тромбоцита взаимодействующие с АДФ и/или АТФ; PAR-1 и PAR-4 – группа мембранных рецепторов тромбоцита взаимодействующие с тромбином; А1, А3, АЗ – домены фактора фон Виллебранда.

Являясь антиагрегантами, все эти препараты слабо влияют на адгезию тромбоцитов, которая больше зависит от скорости сдвига. В исследовании APRICOT было включено 300 пациентов с ОКС, которым успешно был проведён тромболизис. Пациенты были разделены на группы, принимающие АСК в дозе 300 мг и плацебо, а также со стенозированием МКА >90% и менее <90%, по данным КАГ. Через 3 месяца пациентам была проведена повторная КАГ. У пациентов, принимавших АСК и со стенозированием МКА >90%, чаще происходили повторные тромботические окклюзии, чем у пациентов, получавших АСК и со стенозированием МКА <90%, соответственно, в 44% и 17% случаев ($p < 0,01$). Среди пациентов, получавших плацебо, количество повторных тромботических окклюзий не отличалось среди пациентов со стенозированием МКА >90% и <90%

и встречалось, соответственно, в 40% и 30% случаев. Авторы исследования предположили, что антитромботические эффекты АСК снижаются в условиях стенозирования МКА >90% [235]. Согласно проведенным исследованиям, при высоких скоростях сдвига ($>2500 \text{ c}^{-1}$) АСК не способна ингибировать агрегацию тромбоцитов и даже может её усиливать. Авторы исследований предположили, что данный феномен происходит за счет снижения базальной продукции простагландина I₂ – мощного ингибитора адгезии и агрегации тромбоцитов, особенно при высоких скоростях сдвига [236-240]. Усиление агрегации АСК может быть нивелировано при использовании клопидогрела, который более эффективен при высоких скоростях сдвига [239, 241]. В исследовании Roald H.E. и соавт., которые использовали микрофлюидное устройство, клопидогрел при скорости сдвига 2600 c^{-1} уменьшал агрегацию тромбоцитов на 51%, но не влиял на адгезию тромбоцитов к коллагену, тогда как АСК снижал агрегацию на 32%, но при этом усиливал адгезию тромбоцитов на 30% [242, 243]. Turner N.A. и соавт. продемонстрировали, что с увеличением скорости сдвига выраженность агрегации тромбоцитов снижается при блокировании рецепторов P2Y₁₂. При скорости сдвига 750 c^{-1} агрегация тромбоцитов снижалась по сравнению с контрольными образцами на 56%, при скорости сдвига 1500 c^{-1} – на 54%, при скорости сдвига 3000 c^{-1} – на 16% [244]. Также стоит учитывать, что до 25% пациентов резистентны к АСК и до 10% пациентов – к клопидогрелу [245, 246].

В настоящем исследовании у пациентов с ранним развитием ИБС впервые изучена связь между режимом антиагрегантной терапии и уровнем ФВ в крови, а также связь между режимом антиагрегантной терапии и адгезией тромбоцитов к коллагену в условиях, приближенных к естественным. Было продемонстрировано, что у пациентов с ранним развитием ИБС клопидогрел или комбинация АСК с ингибитором P2Y₁₂ эффективнее, чем АСК, снижает адгезию тромбоцитов, как исходную, так и адгезию тромбоцитов после блокирования GPIIb. Несмотря на отсутствие прямого взаимодействия между рецепторами тромбоцитов к коллагену и ингибиторами P2Y₁₂, подавление АДФ-индуцированной активации тромбоцитов введет к снижению адгезии тромбоцитов, что показали Remijn J.A. и соавт. в своей

работе [247]. Результаты настоящего исследования продемонстрировали, что АСК не снижала исходную адгезию тромбоцитов у пациентов контрольной группы, в сравнении с пациентами этой же группы без антиагрегантной терапии. При сравнении исходной адгезии тромбоцитов у пациентов с ранним развитием ИБС и у пациентов контрольной группы, которые принимали АСК, различий в исходной адгезии не выявлено. Она равнялась 12 [9,9; 14,8] мВ и 12,5 [9,1; 15,3] мВ, соответственно ($p = 0,9$). В связи с этим можно предположить, что у пациентов с ранним развитием ИБС, так же как у пациентов контрольной группы, АСК не снижает исходную адгезию тромбоцитов, что находит подтверждение в ранее опубликованных исследованиях [235-240, 242, 243].

GPIIb является вторым по распространённости рецептором на поверхности тромбоцита после GPIIb/IIIa и главным рецептором адгезии тромбоцитов при высоких скоростях сдвига. Результаты настоящего исследования продемонстрировали, что выраженность изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия рецепторов GPIIb с ФВ не зависит от приема антиагрегантной терапии, как у пациентов с ранним развитием ИБС, так и у пациентов контрольной группы. Таким образом, ФВ вместе с GPIIb являются привлекательной мишенью для разработки новых лекарственных препаратов, которые могли бы быть использованы для профилактики ИБС. За последние десятилетия изучались препараты, которые селективно блокируют взаимодействие рецепторов GPIIb с доменом A1 ФВ – антагонисты домена A1 ФВ (TAGX-0004, VT200, DTRI-031, каплацизумаб) и антагонист рецепторов GPIIb тромбоцитов (анфибатид) (рис. 21). Проводятся исследования по оценке эффективности и безопасности этих препаратов у пациентов с ОКС и ОНМК. В настоящий момент только каплацизумаб был одобрен для клинического использования у пациентов с ТТП.

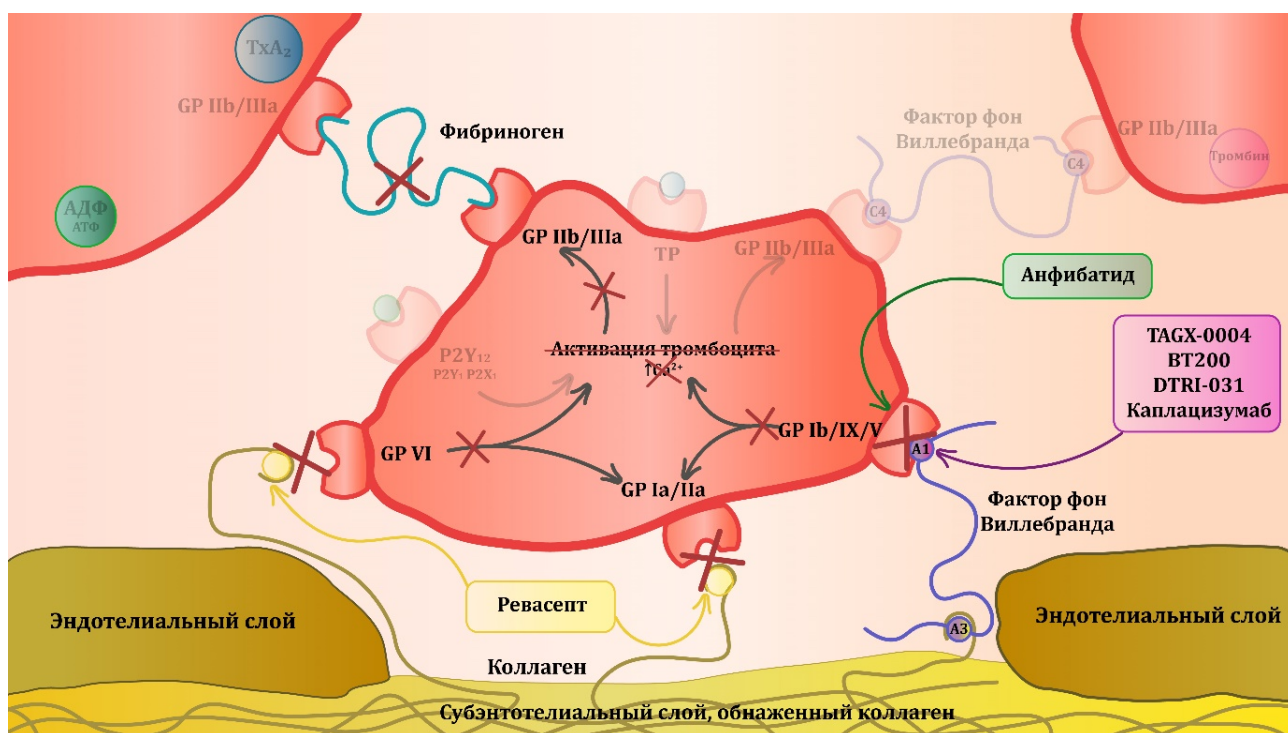


Рис. 21. Схематическое изображение тромбоцита и точки приложения препаратов, подавляющие адгезию тромбоцитов.

Примечание. GP – гликопротеин; АДФ – аденозиндифосфат; АТФ – аденозинтрифосфат; ТхА2 – тромбосан А2; P2Y12, P2Y1, P2X1 – группа мембранных рецепторов тромбоцита взаимодействующие с АДФ и/или АТФ; А1, А3, С4 – домены фактора фон Виллебранда.

В настоящем исследовании логистический регрессионный анализ показал, что с поправкой на основные факторы риска ИБС, выраженность изменения адгезии тромбоцитов $\geq 45\%$ после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ связана с повышенной вероятностью выявления ИБС у мужчин в возрасте до 55 лет и у женщин в возрасте до 65 лет (ОШ 6,3; 95% ДИ 2,4-16,2, $p < 0,001$). Пациенты с ранним развитием ИБС могут оставаться в зоне риска осложнений ИБС, несмотря на принимаемую антиагрегантную терапию. Блокирование адгезии тромбоцитов у таких пациентов может стать новым шагом во вторичной профилактике ИБС.

GPVI – поверхностный гликопротеин тромбоцитов, занимающий до 20% от всех рецепторов на поверхности тромбоцита, основной задачей которого является активация тромбоцита при контакте с коллагеном [248]. Дефицит GPVI, например,

при наличии мутации в гене GP6, приводит к снижению адгезии тромбоцитов к субэндотелиальному коллагену, и как следствие этому, к снижению внутриартериального тромбообразования, редко вызывая тяжелые кровотечения [249, 250]. Повышенная экспрессия GPVI коррелируют с худшим прогнозом у пациентов с ОКС [251, 252]. Первые немногочисленные исследования с АСТ017 – антагонистом GPVI показали, что введение АСТ017 подопытным животным и здоровым добровольцам снижало агрегацию тромбоцитов на 20% без развития кровотечений [253, 254]. Однако стоит отметить, что экспрессия GPVI может снижаться при повышенных скоростях сдвига, что делает антагонисты GPVI менее привлекательными препаратами в качестве вторичной профилактики ИБС с точки зрения биомеханического пути образования тромба [255]. С другой стороны, препараты, избирательно блокирующие эндотелиальный коллаген, могут оказаться более эффективны, чем специфичные блокаторы «коллагеновых» рецепторов тромбоцитов (GPVI и GPIa/IIa). Например, реваसेпт – препарат способный конкурентно связывается с эндотелиальным коллагеном и предотвращать взаимодействие коллагена с гликопротеинами Ib (через ФВ), VI, Ia/IIa, тем самым блокируя адгезию тромбоцитов, не увеличивая риски кровотечения (рис. 21) [29, 216].

Современные антиагрегантные препараты, не затрагивая биохимический путь образования тромба, обладают ограниченной эффективностью в избирательном предотвращении тромбообразования без вмешательства в физиологический процесс гемостаза, тем самым увеличивая риск кровотечения. Существующие методы оценки свертывания крови, включая измерение времени кровотечения, активированного частичного тромбопластинового времени, протромбинового времени, агрегометрию тромбоцитов и ряд других методов, не учитывают биомеханические аспекты тромбообразования. Необходимо продолжить поиски новых лекарственных средств, а также способы определения их эффективности и безопасности, нацеленных на предотвращение тромбообразования, в частности при высоких скоростях сдвига, которые наблюдаются в суженных за счет атеросклеротических бляшек участках артерий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе продемонстрировано практическое применение микрофлюидного устройства для регистрации адгезии тромбоцитов к коллагену в условиях повышенной скорости сдвига. ФВ – главное связующее звено между тромбоцитами и субэндотелиальным коллагеном в местах повреждения эндотелия. Единственный рецептор тромбоцита, обладающий крайне высоким сродством к ФВ, является GPIIb. Измерение адгезии тромбоцитов до и после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ проведено у 84 пациентов с ранним развитием ИБС и у 64 пациентов без ИБС. Разницу между 15-минутными значениями исходной адгезии тромбоцитов до и после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ называли «выраженностью изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ». Результаты проведенной работы демонстрируют, что у пациентов с ранним развитием ИБС выраженность изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ в 2,6 раза больше, чем у пациентов без ИБС. Было продемонстрировано, что уровень ФВ не влияет на адгезию тромбоцитов, опосредованную взаимодействием рецепторов GPIIb тромбоцитов с ФВ.

Пациентам с ИБС в качестве профилактики тромботических осложнений показан длительный прием антиагрегантной терапии. По данным нашего исследования, исходная адгезия тромбоцитов и адгезия тромбоцитов после блокирования GPIIb тромбоцитов у пациентов с ранним развитием ИБС, принимающих клопидогрел или комбинацию АСК с ингибитором P2Y₁₂ (клопидогрел или тикагрелор) меньше, чем у пациентов с ранним развитием ИБС, принимающих АСК. В то же время, различные режимы антиагрегантной терапии (АСК, клопидогрел или комбинация АСК с ингибитором P2Y₁₂ клопидогрелом или тикагрелором) не влияют на выраженность изменения адгезии тромбоцитов после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ.

В работе проведен сравнительный анализ факторов, связанных с ранним возникновением ИБС. С поправкой на факторы риска, выраженность изменения адгезии тромбоцитов $\geq 45\%$ после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ увеличивает вероятность выявления ИБС у мужчин в возрасте до 55 лет и у женщин в возрасте до 65 лет более, чем в 6 раз. Такие факторы риска, как злостное курение, мужской пол и возраст были так же связаны с повышенной вероятностью выявления ИБС.

Пациенты со значениями выраженности изменения адгезии тромбоцитов $\geq 45\%$ после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ могут оставаться в зоне риска осложнений ИБС, несмотря на принимаемую антиагрегантную терапию. Блокирование адгезии тромбоцитов у таких пациентов может стать новым шагом во вторичной профилактике ИБС.

ВЫВОДЫ

1. Блокирование рецепторов GPIIb тромбоцитов у пациентов с ранним развитием ИБС приводит в 2,6 раза большему, чем у пациентов без ИБС, снижению выраженности адгезии тромбоцитов к коллагену в условиях повышенной скорости сдвига.
2. Уровень ФВ не влияет на адгезию тромбоцитов, опосредованную взаимодействием рецепторов GPIIb с ФВ.
3. Адгезия тромбоцитов у пациентов с ранним развитием ИБС, принимающих клопидогрел или комбинацию АСК с ингибитором P2Y₁₂ (клопидогрел или тикагрелор) меньше, чем у пациентов, принимающих АСК. Режим антиагрегантной терапии (АСК, клопидогрел или комбинация АСК с ингибитором P2Y₁₂ - клопидогрелом или тикагрелором) не влияет на опосредованную GPIIb адгезию тромбоцитов.
4. У мужчин в возрасте до 55 лет и у женщин в возрасте до 65 лет выраженность изменения адгезии тромбоцитов $\geq 45\%$ после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ вне зависимости от факторов риска связана с повышенной вероятностью выявления ИБС (ОШ 6,3; 95% ДИ 2,4-16,2; $p < 0,001$). С повышенной вероятностью выявления рано возникшей ИБС независимо связаны: злостное курение (ОШ 6,1; 95% ДИ 1,7-25,4; $p = 0,01$), мужской пол (ОШ 3,4; 95% ДИ 1,2-10; $p = 0,02$) и возраст (ОШ 1,1; 95% ДИ 1-1,14; $p = 0,02$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Способ измерения адгезии тромбоцитов к коллагену, опосредованной взаимодействием рецепторов GPIIb тромбоцитов с ФВ, с помощью оригинального микрофлюидного устройства может найти применение в исследованиях механизмов начального этапа тромбообразования у пациентов с ранним развитием ИБС и для изучения препаратов, блокирующих взаимодействие ФВ с сосудистой стенкой и/или тромбоцитами.
2. Пациенты со значениями выраженности изменения адгезии тромбоцитов $\geq 45\%$ после блокирования взаимодействия их рецепторов GPIIb с ФВ должны рассматриваться, как пациенты с повышенной вероятностью тромботических осложнений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Gulati R. Acute Myocardial Infarction in Young Individuals / Gulati R., Behfar A., Narula J. et al.// *Mayo Clin Proc.* – 2020. – №95. – P. 136-156.
2. Qureshi W. T. Comparison of Prevalence, Presentation, and Prognosis of Acute Coronary Syndromes in ≤ 35 years, 36 - 54 years, and ≥ 55 years Patients / Qureshi W. T., Kakouros N., Fahed J., Rade J. J.// *Am J Cardiol.* – 2021. – №140. – P. 1-6.
3. Morillas P. Characteristics and outcome of acute myocardial infarction in young patients. The PRIAMHO II study / Morillas P., Bertomeu V., Pabón P. et al.// *Cardiology.* – 2007. – №107. – P. 217-25.
4. Maroszyńska-Dmoch E. M. Clinical and angiographic characteristics of coronary artery disease in young adults: a single centre study / Maroszyńska-Dmoch E. M., Woźakowska-Kapłon B.// *Kardiol Pol.* – 2016. – №74. – P. 314-21.
5. Figtree G. A. Mortality in STEMI patients without standard modifiable risk factors: a sex-disaggregated analysis of SWEDEHEART registry data / Figtree G. A., Vernon S. T., Hadziosmanovic N. et al.// *The Lancet.* – 2021. – №397. – P. 1085-1094.
6. Figtree G. A. Clinical Outcomes in Patients With ST-Segment Elevation MI and No Standard Modifiable Cardiovascular Risk Factors / Figtree G. A., Redfors B., Kozor R. et al.// *JACC Cardiovasc Interv.* – 2022. – №15. – P. 1167-1175.
7. Pendu R. P-selectin glycoprotein ligand 1 and beta2-integrins cooperate in the adhesion of leukocytes to von Willebrand factor / Pendu R., Terraube V., Christophe O. D. et al.// *Blood.* – 2006. – №108. – P. 3746-52.
8. Jansson J. H. von Willebrand factor in plasma: a novel risk factor for recurrent myocardial infarction and death / Jansson J. H., Nilsson T. K., Johnson O.// *Br Heart J.* – 1991. – №66. – P. 351-5.
9. Rumley A. Factor VIII, von Willebrand factor and the risk of major ischaemic heart disease in the Caerphilly Heart Study / Rumley A., Lowe G. D., Sweetnam P. M. et al.// *Br J Haematol.* – 1999. – №105. – P. 110-6.

10. Ray K. K. Predictors of the rise in vWF after ST elevation myocardial infarction: implications for treatment strategies and clinical outcome: An ENTIRE-TIMI 23 substudy / Ray K. K., Morrow D. A., Gibson C. M. et al.// *Eur Heart J.* – 2005. – №26. – P. 440-6.
11. Thompson S. G. Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group / Thompson S. G., Kienast J., Pyke S. D. et al.// *N Engl J Med.* – 1995. – №332. – P. 635-41.
12. van Loon J. E. Prognostic markers in young patients with premature coronary heart disease / van Loon J. E., de Maat M. P., Deckers J. W. et al.// *Atherosclerosis.* – 2012. – №224. – P. 213-7.
13. Marín F. The prognostic value of biomarkers after a premature myocardial infarction / Pineda J., Marín F., Marco P. et al.// *Int J Cardiol.* – 2010. – №143. – P. 249-54.
14. George R. Circulating Thrombotic Risk Factors in Young Patients with Coronary Artery Disease Who Are on Statins and Anti-platelet Drugs / George R., Sivadasanpillai H., Jayakumari N. et al.// *Indian J Clin Biochem.* – 2016. – №31. – P. 302-9.
15. Morange P. E. Haemostatic factors and the risk of cardiovascular death in patients with coronary artery disease: the AtheroGene study / Morange P. E., Bickel C., Nicaud V. et al.// *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 2006. – №26. – P. 2793-9.
16. Pineda J. Premature coronary artery disease in young (age <45) subjects: interactions of lipid profile, thrombophilic and haemostatic markers / Pineda J., Marín F., Marco P. et al.// *Int J Cardiol.* – 2009. – №136. – P. 222-5.
17. Алексеева И. В. Повышенный уровень фактора Виллебранда как дополнительный фактор риска повторных сердечно-сосудистых событий у пациентов с ранним дебютом ишемической болезни сердца / Алексеева И. В., Васина Л., Баранова Е. и др.// *Трансляционная медицина.* – 2022. – №9. – С. 15-26.
18. Sadler J. E. Biochemistry and genetics of von Willebrand factor / Sadler J. E.// *Annu Rev Biochem.* – 1998. – №67. – P. 395-424.

19. Denorme F. von Willebrand Factor and Platelet Glycoprotein Ib: A Thromboinflammatory Axis in Stroke / Denorme F., Vanhoorelbeke K., De Meyer S. F.// *Front Immunol.* – 2019. – №10. – P. 2884.
20. *Klinische Chemie und Hämatologie: 69 Tabellen;[Taschenlehrbuch].* / Dörner K.: Georg Thieme Verlag, 2009.
21. Gabbasov Z. A. Kinetics of platelet adhesion to a fibrinogen-coated surface in whole blood under flow conditions / Gabbasov Z. A., Avtaeva Y. N., Melnikov I. S. et al.// *J Clin Lab Anal.* – 2021. – №35. – P. e23939.
22. Автаева Ю. Регистрация в реальном времени адгезии тромбоцитов на иммобилизованном на оптической подложке фибриногеновом покрытии в условиях потока / Автаева Ю., Мельников И., Габбасов З.// *Клеточные технологии в биологии и медицине.* – 2018. – С. 48-52.
23. Rana A. Shear-Dependent Platelet Aggregation: Mechanisms and Therapeutic Opportunities / Rana A., Westein E., Niego B., Hagemeyer C. E.// *Front Cardiovasc Med.* – 2019. – №6. – P. 141.
24. Hosokawa K. A novel automated microchip flow-chamber system to quantitatively evaluate thrombus formation and antithrombotic agents under blood flow conditions / Hosokawa K., Ohnishi T., Kondo T. et al.// *J Thromb Haemost.* – 2011. – №9. – P. 2029-37.
25. Kageyama S. Effect of a humanized monoclonal antibody to von Willebrand factor in a canine model of coronary arterial thrombosis / Kageyama S., Matsushita J., Yamamoto H.// *Eur J Pharmacol.* – 2002. – №443. – P. 143-9.
26. Охота С. Д. Фактор фон Виллебранда и сердечно-сосудистая патология / Охота С. Д., Козлов С. Г., Автаева Ю. Н. и др.// *Атеросклероз и дислипидемии.* – 2022. – С. 10-24.
27. Scully M. Caplacizumab Treatment for Acquired Thrombotic Thrombocytopenic Purpura / Scully M., Cataland S. R., Peyvandi F. et al.// *N Engl J Med.* – 2019. – №380. – P. 335-346.

28. Gilbert J. C. First-in-human evaluation of anti von Willebrand factor therapeutic aptamer ARC1779 in healthy volunteers / Gilbert J. C., DeFeo-Fraulini T., Hutabarat R. M. et al.// *Circulation*. – 2007. – №116. – P. 2678-86.
29. Goebel S. The GPVI-Fc fusion protein Revacept improves cerebral infarct volume and functional outcome in stroke / Goebel S., Li Z., Vogelmann J. et al.// *PLoS One*. – 2013. – №8. – P. e66960.
30. Fihn S. D. 2012 ACCF/AHA/ACP/AATS/PCNA/SCAI/STS guideline for the diagnosis and management of patients with stable ischemic heart disease: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association task force on practice guidelines, and the American College of Physicians, American Association for Thoracic Surgery, Preventive Cardiovascular Nurses Association, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, and Society of Thoracic Surgeons / Fihn S. D., Gardin J. M., Abrams J. et al.// *Circulation*. – 2012. – №126. – P. e354-e471.
31. Arnett D. K. 2019 ACC/AHA guideline on the primary prevention of cardiovascular disease: executive summary: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines / Arnett D. K., Blumenthal R. S., Albert M. A. et al.// *Circulation*. – 2019. – №140. – P. e563-e595.
32. Piepoli M. F. Guidelines: Editor's choice: 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of 10 societies and by invited experts) Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR) / Piepoli M. F., Hoes A. W., Agewall S. et al.// *European heart journal*. – 2016. – №37. – P. 2315.
33. Khot U. N. Prevalence of conventional risk factors in patients with coronary heart disease / Khot U. N., Khot M. B., Bajzer C. T. et al.// *Jama*. – 2003. – №290. – P. 898-904.
34. Collet J. P. Long-Term Evolution of Premature Coronary Artery Disease / Collet J. P., Zeitouni M., Procopi N. et al.// *J Am Coll Cardiol*. – 2019. – №74. – P. 1868-1878.

35. Zeitouni M. Risk Factor Burden and Long-Term Prognosis of Patients With Premature Coronary Artery Disease / Zeitouni M., Clare R. M., Chiswell K. et al.// J Am Heart Assoc. – 2020. – №9. – P. e017712.
36. Ruiz Pizarro V. ST-Elevation Myocardial Infarction in Patients ≤ 35 Years of Age / Ruiz Pizarro V., Palacios-Rubio J., Cruz-Utrilla A. et al.// Am J Cardiol. – 2019. – №123. – P. 889-893.
37. Pineda J. Premature myocardial infarction: clinical profile and angiographic findings / Pineda J., Marín F., Roldán V. et al.// Int J Cardiol. – 2008. – №126. – P. 127-9.
38. Schoenenberger A. W. Acute coronary syndromes in young patients: presentation, treatment and outcome / Schoenenberger A. W., Radovanovic D., Stauffer J. C. et al.// Int J Cardiol. – 2011. – №148. – P. 300-4.
39. Fournier J. A. Myocardial infarction in men aged 40 years or less: a prospective clinical-angiographic study / Fournier J. A., Sánchez A., Quero J. et al.// Clin Cardiol. – 1996. – №19. – P. 631-6.
40. Doughty M. Acute myocardial infarction in the young--The University of Michigan experience / Doughty M., Mehta R., Bruckman D. et al.// Am Heart J. – 2002. – №143. – P. 56-62.
41. Zgheib H. Comparison of outcomes in ST-elevation myocardial infarction according to age / Zgheib H., Al Souky N., El Majzoub I. et al.// Am J Emerg Med. – 2020. – №38. – P. 485-490.
42. Yandrapalli S. Modifiable Risk Factors in Young Adults With First Myocardial Infarction / Yandrapalli S., Nabors C., Goyal A. et al.// J Am Coll Cardiol. – 2019. – №73. – P. 573-584.
43. Gautadottir K. Acute myocardial infarction in young adults: incidence, risk factors and prognosis / Gautadottir K., Gudmundsdottir I. J., Sigurdsson M. I., Andersen K.// Laeknabladid. – 2022. – №108. – P. 439-445.
44. Rallidis L. S. Characteristics and Long-Term Prognosis of Patients ≤ 35 Years of Age with ST Segment Elevation Myocardial Infarction and "Normal or Near Normal"

- Coronary Arteries / Rallidis L. S., Gialeraki A., Triantafyllis A. S. et al.// *Am J Cardiol.* – 2017. – №120. – P. 740-746.
45. Larsen G. K. The ongoing importance of smoking as a powerful risk factor for ST-segment elevation myocardial infarction in young patients / Larsen G. K., Seth M., Gurm H. S.// *JAMA Intern Med.* – 2013. – №173. – P. 1261-2.
46. Cole J. H. Long-term follow-up of coronary artery disease presenting in young adults / Cole J. H., Miller J. I., 3rd, Sperling L. S., Weintraub W. S.// *J Am Coll Cardiol.* – 2003. – №41. – P. 521-8.
47. Chen T. S. The demographic profile of young patients (<45 years-old) with acute coronary syndromes in Queensland / Chen T. S., Incani A., Butler T. C. et al.// *Heart Lung Circ.* – 2014. – №23. – P. 49-55.
48. Oliveira A. Impact of risk factors for non-fatal acute myocardial infarction / Oliveira A., Barros H., Azevedo A. et al.// *Eur J Epidemiol.* – 2009. – №24. – P. 425-32.
49. Chan M. Y. Antecedent risk factors and their control in young patients with a first myocardial infarction / Chan M. Y., Woo K. S., Wong H. B. et al.// *Singapore Med J.* – 2006. – №47. – P. 27-30.
50. Chan C. M. Circadian variation of acute myocardial infarction in young people / Chan C. M., Chen W. L., Kuo H. Y. et al.// *Am J Emerg Med.* – 2012. – №30. – P. 1461-5.
51. Milionis H. J. Metabolic syndrome and risk of acute coronary syndromes in patients younger than 45 years of age / Milionis H. J., Kalantzi K. J., Papathanasiou A. J. et al.// *Coron Artery Dis.* – 2007. – №18. – P. 247-52.
52. Jinnouchi H. Clinical features of myocardial infarction in young Japanese patients / Jinnouchi H., Sakakura K., Wada H. et al.// *Int Heart J.* – 2013. – №54. – P. 123-8.
53. Goliash G. Relative importance of different lipid risk factors for the development of myocardial infarction at a very young age (≤ 40 years of age) / Goliash G., Oravec S., Blessberger H. et al.// *Eur J Clin Invest.* – 2012. – №42. – P. 631-6.
54. Wiesbauer F. Familial-combined hyperlipidaemia in very young myocardial infarction survivors ($< \text{or} = 40$ years of age) / Wiesbauer F., Blessberger H., Azar D. et al.// *Eur Heart J.* – 2009. – №30. – P. 1073-9.

55. Singh A. Familial Hypercholesterolemia Among Young Adults With Myocardial Infarction / Singh A., Gupta A., Collins B. L. et al.// J Am Coll Cardiol. – 2019. – №73. – P. 2439-2450.
56. Li S. Familial hypercholesterolemia in very young myocardial infarction / Li S., Zhang H.-W., Guo Y.-L. et al.// Scientific reports. – 2018. – №8. – P. 1-8.
57. Haskiah F. Familial Hypercholesterolemia Among Young Adults With Acute Coronary Syndrome / Haskiah F., Erez D., Khaskia A.// Am J Cardiol. – 2023. – №186. – P. 189-195.
58. Cui Y. Prevalence of familial hypercholesterolemia in patients with premature myocardial infarction / Cui Y., Li S., Zhang F. et al.// Clin Cardiol. – 2019. – №42. – P. 385-390.
59. Catapano A. L. 2016 ESC/EAS guidelines for the management of dyslipidaemias / Catapano A. L., Graham I., De Backer G. et al.// European heart journal. – 2016. – №37. – P. 2999-3058.
60. Tsimikas S. NHLBI Working Group Recommendations to Reduce Lipoprotein(a)-Mediated Risk of Cardiovascular Disease and Aortic Stenosis / Tsimikas S., Fazio S., Ferdinand K. C. et al.// J Am Coll Cardiol. – 2018. – №71. – P. 177-192.
61. Kamstrup P. R. Genetically elevated lipoprotein(a) and increased risk of myocardial infarction / Kamstrup P. R., Tybjaerg-Hansen A., Steffensen R., Nordestgaard B. G.// Jama. – 2009. – №301. – P. 2331-9.
62. Afshar M. Lipoprotein(a) Interactions With Low-Density Lipoprotein Cholesterol and Other Cardiovascular Risk Factors in Premature Acute Coronary Syndrome (ACS) / Afshar M., Pilote L., Dufresne L. et al.// J Am Heart Assoc. – 2016. – №5.
63. Chandra S. Correlation of lipoprotein (a) levels and plaque morphology in very young acute coronary syndrome patients using optical coherence tomography / Chandra S., Nagar S., Shukla A. et al.// Indian Heart J. – 2022. – №74. – P. 357-362.
64. Rallidis L. S. High levels of lipoprotein (a) and premature acute coronary syndrome / Rallidis L. S., Pavlakis G., Foscolou A. et al.// Atherosclerosis. – 2018. – №269. – P. 29-34.

65. Wittlinger T. Prognosis in myocardial infarction of young patients: Results of a prospective registry / Wittlinger T., Seifert C., Simonis G. et al.// *Int J Cardiol.* – 2020. – №300. – P. 1-6.
66. Ricci B. Acute Coronary Syndrome: The Risk to Young Women / Ricci B., Cenko E., Vasiljevic Z. et al.// *J Am Heart Assoc.* – 2017. – №6.
67. Yang J. Risk Factors and Outcomes of Very Young Adults Who Experience Myocardial Infarction: The Partners YOUNG-MI Registry / Yang J., Biery D. W., Singh A. et al.// *Am J Med.* – 2020. – №133. – P. 605-612.e1.
68. Alishiri G. The frequency of anti-phospholipid antibody syndrome in patients with premature coronary artery disease / Alishiri G., Moshkani Farahani M., Sadr A. et al.// *J Cardiovasc Thorac Res.* – 2018. – №10. – P. 227-230.
69. Urbanus R. T. Antiphospholipid antibodies and risk of myocardial infarction and ischaemic stroke in young women in the RATIO study: a case-control study / Urbanus R. T., Siegerink B., Roest M. et al.// *Lancet Neurol.* – 2009. – №8. – P. 998-1005.
70. Morici N. von Willebrand factor and its cleaving protease ADAMTS13 balance in coronary artery vessels: Lessons learned from thrombotic thrombocytopenic purpura. A narrative review / Morici N., Cantoni S., Panzeri F. et al.// *Thromb Res.* – 2017. – №155. – P. 78-85.
71. Mahtta D. Recreational substance use among patients with premature atherosclerotic cardiovascular disease / Mahtta D., Ramsey D., Krittanawong C. et al.// *Heart.* – 2021. – №107. – P. 650-656.
72. Fournier J. A. Long-term prognosis of patients having acute myocardial infarction when ≤ 40 years of age / Fournier J. A., Cabezón S., Cayuela A. et al.// *Am J Cardiol.* – 2004. – №94. – P. 989-92.
73. Zimmerman F. H. Myocardial infarction in young adults: angiographic characterization, risk factors and prognosis (Coronary Artery Surgery Study Registry) / Zimmerman F. H., Cameron A., Fisher L. D., Ng G.// *J Am Coll Cardiol.* – 1995. – №26. – P. 654-61.

74. Rallidis L. S. Factor XIII Val34Leu polymorphism and the risk of myocardial infarction under the age of 36 years / Rallidis L. S., Politou M., Komporozos C. et al.// *Thromb Haemost.* – 2008. – №99. – P. 1085-9.
75. Rallidis L. S. Causes, Angiographic Characteristics, and Management of Premature Myocardial Infarction: JACC State-of-the-Art Review / Rallidis L. S., Xenogiannis I., Brilakis E. S., Bhatt D. L.// *J Am Coll Cardiol.* – 2022. – №79. – P. 2431-2449.
76. Brass L. F. Harnessing the platelet signaling network to produce an optimal hemostatic response / Brass L. F., Tomaiuolo M., Stalker T. J.// *Hematol Oncol Clin North Am.* – 2013. – №27. – P. 381-409.
77. Стуклов Н. И. Физиология и патология гемостаза / Стуклов Н. И., Кобелевская Н. В., Поликарпова Т. С. и др.//. – 2016.
78. Stocksclaeder M. Update on von Willebrand factor multimers: focus on high-molecular-weight multimers and their role in hemostasis / Stocksclaeder M., Schneppenheim R., Budde U.// *Blood Coagul Fibrinolysis.* – 2014. – №25. – P. 206-16.
79. Zhang Q. Structural specializations of A2, a force-sensing domain in the ultralarge vascular protein von Willebrand factor / Zhang Q., Zhou Y. F., Zhang C. Z. et al.// *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2009. – №106. – P. 9226-31.
80. Wijeratne S. S. Mechanical activation of a multimeric adhesive protein through domain conformational change / Wijeratne S. S., Botello E., Yeh H. C. et al.// *Phys Rev Lett.* – 2013. – №110. – P. 108102.
81. Chen J. Inflammation, von Willebrand factor, and ADAMTS13 / Chen J., Chung D. W.// *Blood.* – 2018. – №132. – P. 141-147.
82. Bryckaert M. Of von Willebrand factor and platelets / Bryckaert M., Rosa J. P., Denis C. V., Lenting P. J.// *Cell Mol Life Sci.* – 2015. – №72. – P. 307-26.
83. Lenting P. J. von Willebrand factor biosynthesis, secretion, and clearance: connecting the far ends / Lenting P. J., Christophe O. D., Denis C. V.// *Blood.* – 2015. – №125. – P. 2019-28.
84. Schneider S. W. Shear-induced unfolding triggers adhesion of von Willebrand factor fibers / Schneider S. W., Nuschele S., Wixforth A. et al.// *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2007. – №104. – P. 7899-903.

85. Singh I. Solution structure of human von Willebrand factor studied using small angle neutron scattering / Singh I., Shankaran H., Beauharnois M. E. et al.// *J Biol Chem.* – 2006. – №281. – P. 38266-75.
86. Crawley J. T. Unraveling the scissile bond: how ADAMTS13 recognizes and cleaves von Willebrand factor / Crawley J. T., de Groot R., Xiang Y. et al.// *Blood.* – 2011. – №118. – P. 3212-21.
87. Bonazza K. Von Willebrand factor A1 domain stability and affinity for GPIIb α are differentially regulated by its O-glycosylated N- and C-linker / Bonazza K., Iacob R. E., Hudson N. E. et al.// *Elife.* – 2022. – №11.
88. Löf A. biophysical view on von Willebrand factor activation / Löf A., Müller J. P., Brehm M. A.// *J Cell Physiol.* – 2018. – №233. – P. 799-810.
89. Fu H. Flow-induced elongation of von Willebrand factor precedes tension-dependent activation / Fu H., Jiang Y., Yang D. et al.// *Nat Commun.* – 2017. – №8. – P. 324.
90. Ruggeri Z. M. Activation-independent platelet adhesion and aggregation under elevated shear stress / Ruggeri Z. M., Orje J. N., Habermann R. et al.// *Blood.* – 2006. – №108. – P. 1903-10.
91. Dunne E. Blood group alters platelet binding kinetics to von Willebrand factor and consequently platelet function / Dunne E., Qi Q. M., Shaqfeh E. S. et al.// *Blood.* – 2019. – №133. – P. 1371-1377.
92. Casa L. D. C. Thrombus Formation at High Shear Rates / Casa L. D. C., Ku D. N.// *Annu Rev Biomed Eng.* – 2017. – №19. – P. 415-433.
93. Sing C. E. Elongational flow induces the unfolding of von Willebrand factor at physiological flow rates / Sing C. E., Alexander-Katz A.// *Biophys J.* – 2010. – №98. – P. L35-7.
94. Westein E. Atherosclerotic geometries exacerbate pathological thrombus formation poststenosis in a von Willebrand factor-dependent manner / Westein E., van der Meer A. D., Kuijpers M. J. et al.// *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2013. – №110. – P. 1357-62.

95. Sakariassen K. S. Thrombus formation on apex of arterial stenoses: the need for a fluid high shear stenosis diagnostic device / Sakariassen K. S.// *Future Cardiol.* – 2007. – №3. – P. 193-201.
96. Asaad Y. The Flow Dependent Adhesion of von Willebrand Factor (VWF)-A1 Functionalized Nanoparticles in an in Vitro Coronary Stenosis Model / Asaad Y., Epshtein M., Yee A., Korin N.// *Molecules.* – 2019. – №24.
97. Zheng Y. Flow-driven assembly of VWF fibres and webs in in vitro microvessels / Zheng Y., Chen J., López J. A.// *Nat Commun.* – 2015. – №6. – P. 7858.
98. Zhang C. von Willebrand factor self-association is regulated by the shear-dependent unfolding of the A2 domain / Zhang C., Kelkar A., Neelamegham S.// *Blood Adv.* – 2019. – №3. – P. 957-968.
99. Blair P. Platelet alpha-granules: basic biology and clinical correlates / Blair P., Flaumenhaft R.// *Blood Rev.* – 2009. – №23. – P. 177-89.
100. McGrath R. T. Platelet von Willebrand factor--structure, function and biological importance / McGrath R. T., McRae E., Smith O. P., O'Donnell J. S.// *Br J Haematol.* – 2010. – №148. – P. 834-43.
101. Kanaji S. Contribution of platelet vs. endothelial VWF to platelet adhesion and hemostasis / Kanaji S., Fahs S. A., Shi Q. et al.// *J Thromb Haemost.* – 2012. – №10. – P. 1646-52.
102. Verhenne S. Platelet-derived VWF is not essential for normal thrombosis and hemostasis but fosters ischemic stroke injury in mice / Verhenne S., Denorme F., Libbrecht S. et al.// *Blood.* – 2015. – №126. – P. 1715-22.
103. Kim D. A. Platelet α -granules are required for occlusive high-shear-rate thrombosis / Kim D. A., Ashworth K. J., Di Paola J., Ku D. N.// *Blood Adv.* – 2020. – №4. – P. 3258-3267.
104. Springer T. A. von Willebrand factor, Jedi knight of the bloodstream / Springer T. A.// *Blood.* – 2014. – №124. – P. 1412-25.
105. Xiang Y. Mechanism of von Willebrand factor scissile bond cleavage by a disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member 13

(ADAMTS13) / Xiang Y., de Groot R., Crawley J. T., Lane D. A.// Proc Natl Acad Sci U S A. – 2011. – №108. – P. 11602-7.

106. Fujikawa K. Purification of human von Willebrand factor-cleaving protease and its identification as a new member of the metalloproteinase family / Fujikawa K., Suzuki H., McMullen B., Chung D.// Blood. – 2001. – №98. – P. 1662-6.

107. Uemura M. Localization of ADAMTS13 to the stellate cells of human liver / Uemura M., Tatsumi K., Matsumoto M. et al.// Blood. – 2005. – №106. – P. 922-4.

108. Mannucci P. M. Plasma levels of von Willebrand factor regulate ADAMTS-13, its major cleaving protease / Mannucci P. M., Capoferri C., Canciani M. T.// Br J Haematol. – 2004. – №126. – P. 213-8.

109. Smith L. J. Laboratory diagnosis of von Willebrand disease / Smith L. J.// American Society for Clinical Laboratory Science. – 2017. – №30. – P. 65-74.

110. Yago T. Platelet glycoprotein Ibalpha forms catch bonds with human WT vWF but not with type 2B von Willebrand disease vWF / Yago T., Lou J., Wu T. et al.// J Clin Invest. – 2008. – №118. – P. 3195-207.

111. Terraube V. Factor VIII and von Willebrand factor interaction: biological, clinical and therapeutic importance / Terraube V., O'Donnell J. S., Jenkins P. V.// Haemophilia. – 2010. – №16. – P. 3-13.

112. Federici A. B. Acquired von Willebrand syndrome: is it an extremely rare disorder or do we see only the tip of the iceberg? / Federici A. B.// J Thromb Haemost. – 2008. – №6. – P. 565-8.

113. Federici A. B. Acquired von Willebrand syndrome associated with hypothyroidism: a mild bleeding disorder to be further investigated / Federici A. B.// Semin Thromb Hemost. – 2011. – №37. – P. 35-40.

114. Othman M. Platelet-type von Willebrand disease: new insights into the molecular pathophysiology of a unique platelet defect / Othman M., Kaur H., Emsley J.// Semin Thromb Hemost. – 2013. – №39. – P. 663-73.

115. Bury L. Mechanisms of thrombocytopenia in platelet-type von Willebrand disease / Bury L., Malara A., Momi S. et al.// Haematologica. – 2019. – №104. – P. 1473-1481.

116. Maurer M. Platelet-type von Willebrand Disease: Diagnostic Challenges. Flaws and Pitfalls Experienced in the THROMKID Quality Project / Maurer M., Mesters R., Schneppenheim R. et al.// *Klin Padiatr.* – 2015. – №227. – P. 131-6.
117. Grainger J. D. How we treat the platelet glycoprotein defects; Glanzmann thrombasthenia and Bernard Soulier syndrome in children and adults / Grainger J. D., Thachil J., Will A. M.// *Br J Haematol.* – 2018. – №182. – P. 621-632.
118. Glembotsky A. C. A Deep Dive into the Pathology of Gray Platelet Syndrome: New Insights on Immune Dysregulation / Glembotsky A. C., De Luca G., Heller P. G.// *J Blood Med.* – 2021. – №12. – P. 719-732.
119. Rizzo C. Thrombotic thrombocytopenic purpura: a review of the literature in the light of our experience with plasma exchange / Rizzo C., Rizzo S., Scirè E. et al.// *Blood Transfus.* – 2012. – №10. – P. 521-32.
120. Groot E. The presence of active von Willebrand factor under various pathological conditions / Groot E., de Groot P. G., Fijnheer R., Lenting P. J.// *Curr Opin Hematol.* – 2007. – №14. – P. 284-9.
121. Галстян Г. М. Диагностика тромботической тромбоцитопенической пурпуры / Галстян Г. М., Клебанова Е. Е.// *Терапевтический архив.* – 2020. – №92. – С. 207-217.
122. Joly B. S. An update on pathogenesis and diagnosis of thrombotic thrombocytopenic purpura / Joly B. S., Coppo P., Veyradier A.// *Expert Rev Hematol.* – 2019. – №12. – P. 383-395.
123. Knöbl P. Inherited and acquired thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) in adults / Knöbl P.// *Semin Thromb Hemost.* – 2014. – №40. – P. 493-502.
124. Лихачева Е. Клинические рекомендации по диагностике и лечению болезни Виллебранда / Лихачева Е., Полянская Т., Зоренко В., Савченко В.// М.: Национальное гематологическое общество. – 2014.
125. James P. D. ASH ISTH NHF WFH 2021 guidelines on the diagnosis of von Willebrand disease / James P. D., Connell N. T., Ameer B. et al.// *Blood advances.* – 2021. – №5. – P. 280-300.

126. Favaloro E. J. Hemostasis and thrombosis: methods and protocols. / Favaloro E. J., Lippi G.: Springer, 2017.
127. Roberts J. Laboratory diagnosis of von Willebrand disease / Roberts J., Flood V.// International journal of laboratory hematology. – 2015. – №37. – P. 11-17.
128. Колосков А. Болезнь Виллебранда / Колосков А.// Медико-фармацевтический журнал «Пульс». – 2017. – №19. – С. 43-48.
129. Jager A. von Willebrand factor, C-reactive protein, and 5-year mortality in diabetic and nondiabetic subjects: the Hoorn Study / Jager A., van Hinsbergh V. W., Kostense P. J. et al.// Arterioscler Thromb Vasc Biol. – 1999. – №19. – P. 3071-8.
130. Budde U. Willebrand factor and von Willebrand disease / Budde U., Schneppenheim R.// Rev Clin Exp Hematol. – 2001. – №5. – P. 335-68; quiz following 431.
131. Franchini M. Relationship between ABO blood group and von Willebrand factor levels: from biology to clinical implications / Franchini M., Capra F., Targher G. et al.// Thromb J. – 2007. – №5. – P. 14.
132. Gallinaro L. A shorter von Willebrand factor survival in O blood group subjects explains how ABO determinants influence plasma von Willebrand factor / Gallinaro L., Cattini M. G., Sztukowska M. et al.// Blood. – 2008. – №111. – P. 3540-5.
133. Reynen E. Von Willebrand Disease and Pregnancy: A Review of Evidence and Expert Opinion / Reynen E., James P.// Semin Thromb Hemost. – 2016. – №42. – P. 717-723.
134. Okhota S. Shear stress-induced activation of von Willebrand factor and cardiovascular pathology / Okhota S., Melnikov I., Avtaeva Y. et al.// International Journal of Molecular Sciences. – 2020. – №21. – P. 7804.
135. Budde U. Laboratory testing for von Willebrand disease: contribution of multimer analysis to diagnosis and classification / Budde U., Pieconka A., Will K., Schneppenheim R.// Semin Thromb Hemost. – 2006. – №32. – P. 514-21.
136. Budde U. Interactions of von Willebrand factor and ADAMTS13 in von Willebrand disease and thrombotic thrombocytopenic purpura / Budde U., Schneppenheim R.// Hamostaseologie. – 2014. – №34. – P. 215-25.

137. Favaloro E. J. The Platelet Function Analyser (PFA)-100 and von Willebrand disease: a story well over 16 years in the making / Favaloro E. J.// *Haemophilia*. – 2015. – №21. – P. 642-5.
138. Harrison P. The role of PFA-100 testing in the investigation and management of haemostatic defects in children and adults / Harrison P.// *Br J Haematol*. – 2005. – №130. – P. 3-10.
139. Heyde E. Gastrointestinal bleeding in aortic stenosis / Heyde E.// *N Engl J Med*. – 1958. – №259. – P. 196.
140. Warkentin T. E. Aortic stenosis and bleeding gastrointestinal angiodysplasia: is acquired von Willebrand's disease the link? / Warkentin T. E., Moore J. C., Morgan D. G.// *Lancet*. – 1992. – №340. – P. 35-7.
141. Warkentin T. E. Gastrointestinal angiodysplasia and aortic stenosis / Warkentin T. E., Moore J. C., Morgan D. G.// *N Engl J Med*. – 2002. – №347. – P. 858-9.
142. Frank R. D. Severe Aortic Valve Stenosis: sustained cure of acquired von Willebrand syndrome after surgical valve replacement / Frank R. D., Lanzmich R., Haager P. K., Budde U.// *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. – 2017. – №23. – P. 229-234.
143. Miller L. W. The development of the von Willebrand syndrome with the use of continuous flow left ventricular assist devices: a cause-and-effect relationship / Miller L. W.// *J Am Coll Cardiol*. – 2010. – №56. – P. 1214-5.
144. Van Belle E. von Willebrand Factor and Management of Heart Valve Disease: JACC Review Topic of the Week / Van Belle E., Vincent F., Rauch A. et al.// *J Am Coll Cardiol*. – 2019. – №73. – P. 1078-1088.
145. Yasar S. J. Von Willebrand factor revisited / Yasar S. J., Abdullah O., Fay W., Balla S.// *J Interv Cardiol*. – 2018. – №31. – P. 360-367.
146. Van Belle E. Von Willebrand Factor Multimers during Transcatheter Aortic-Valve Replacement / Van Belle E., Rauch A., Vincent F. et al.// *N Engl J Med*. – 2016. – №375. – P. 335-44.

147. Panzer S. Loss of high-molecular-weight von Willebrand factor multimers mainly affects platelet aggregation in patients with aortic stenosis / Panzer S., Badr Eslam R., Schneller A. et al.// *Thromb Haemost.* – 2010. – №103. – P. 408-14.
148. Vincentelli A. Acquired von Willebrand syndrome in aortic stenosis / Vincentelli A., Susen S., Le Tourneau T. et al.// *N Engl J Med.* – 2003. – №349. – P. 343-9.
149. Blackshear J. L. Shear stress-associated acquired von Willebrand syndrome in patients with mitral regurgitation / Blackshear J. L., Wysokinska E. M., Safford R. E. et al.// *J Thromb Haemost.* – 2014. – №12. – P. 1966-74.
150. Solomon C. Acquired type 2A von Willebrand syndrome caused by aortic valve disease corrects during valve surgery / Solomon C., Budde U., Schneppenheim S. et al.// *Br J Anaesth.* – 2011. – №106. – P. 494-500.
151. Susen S. Severe Aortic and Mitral Valve Regurgitation Are Associated with von Willebrand Factor Defect / Susen S., Vincentelli A., Le Tourneau T. et al.// *Book Severe Aortic and Mitral Valve Regurgitation Are Associated with von Willebrand Factor Defect* / Editor American Society of Hematology, 2005.
152. Meindl C. Acquired von Willebrand syndrome and factor VIII in patients with moderate to severe mitral regurgitation undergoing transcatheter mitral valve repair / Meindl C., Paulus M., Koller T. et al.// *Clin Cardiol.* – 2021. – №44. – P. 261-266.
153. Wan S. H. Acquired Von Willebrand syndrome secondary to mitral and aortic regurgitation / Wan S. H., Liang J. J., Vaidya R. et al.// *Can J Cardiol.* – 2014. – №30. – P. 1108.e9-1108.e10.
154. Blackshear J. L. Hypertrophic obstructive cardiomyopathy, bleeding history, and acquired von Willebrand syndrome: response to septal myectomy / Blackshear J. L., Schaff H. V., Ommen S. R. et al.// *Mayo Clin Proc.* – 2011. – №86. – P. 219-24.
155. Le Tourneau T. Functional impairment of von Willebrand factor in hypertrophic cardiomyopathy: relation to rest and exercise obstruction / Le Tourneau T., Susen S., Caron C. et al.// *Circulation.* – 2008. – №118. – P. 1550-7.
156. Davis M. E. Immediate recovery of acquired von Willebrand syndrome after left ventricular assist device explantation: implications for heart transplantation / Davis M. E., Haglund N. A., Tricarico N. M. et al.// *Asaio j.* – 2015. – №61. – P. e1-4.

157. Nichols T. C. von Willebrand factor and occlusive arterial thrombosis. A study in normal and von Willebrand's disease pigs with diet-induced hypercholesterolemia and atherosclerosis / Nichols T. C., Bellinger D. A., Tate D. A. et al.// *Arteriosclerosis*. – 1990. – №10. – P. 449-61.
158. Gandhi C. ADAMTS13 deficiency exacerbates VWF-dependent acute myocardial ischemia/reperfusion injury in mice / Gandhi C., Motto D. G., Jensen M. et al.// *Blood*. – 2012. – №120. – P. 5224-30.
159. Seaman C. D. Does deficiency of von Willebrand factor protect against cardiovascular disease? Analysis of a national discharge register / Seaman C. D., Yabes J., Comer D. M., Ragni M. V.// *J Thromb Haemost*. – 2015. – №13. – P. 1999-2003.
160. Mihiyawi N. The Cardioprotective Potential of von Willebrand Disease in Ischemic Heart Disease / Mihiyawi N., Ajmal M., Fath A. R. et al.// *Tex Heart Inst J*. – 2022. – №49.
161. Xu A. G. Correlation of von Willebrand factor gene polymorphism and coronary heart disease / Xu A. G., Xu R. M., Lu C. Q. et al.// *Mol Med Rep*. – 2012. – №6. – P. 1107-10.
162. Kaikita K. Reduced von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13) activity in acute myocardial infarction / Kaikita K., Soejima K., Matsukawa M. et al.// *J Thromb Haemost*. – 2006. – №4. – P. 2490-3.
163. Rutten B. Plasma levels of active Von Willebrand factor are increased in patients with first ST-segment elevation myocardial infarction: a multicenter and multiethnic study / Rutten B., Maseri A., Cianflone D. et al.// *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care*. – 2015. – №4. – P. 64-74.
164. Chion C. K. ADAMTS13 and von Willebrand factor and the risk of myocardial infarction in men / Chion C. K., Doggen C. J., Crawley J. T. et al.// *Blood*. – 2007. – №109. – P. 1998-2000.
165. Li Y. Plasma von Willebrand factor level is transiently elevated in a rat model of acute myocardial infarction / Li Y., Li L., Dong F. et al.// *Exp Ther Med*. – 2015. – №10. – P. 1743-1749.

166. Whincup P. H. von Willebrand factor and coronary heart disease: prospective study and meta-analysis / Whincup P. H., Danesh J., Walker M. et al.// *Eur Heart J.* – 2002. – №23. – P. 1764-70.
167. Morange P. E. Endothelial cell markers and the risk of coronary heart disease: the Prospective Epidemiological Study of Myocardial Infarction (PRIME) study / Morange P. E., Simon C., Alessi M. C. et al.// *Circulation.* – 2004. – №109. – P. 1343-8.
168. Willeit P. Hemostatic factors and risk of coronary heart disease in general populations: new prospective study and updated meta-analyses / Willeit P., Thompson A., Aspelund T. et al.// *PLoS One.* – 2013. – №8. – P. e55175.
169. Folsom A. R. Prospective study of hemostatic factors and incidence of coronary heart disease: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study / Folsom A. R., Wu K. K., Rosamond W. D. et al.// *Circulation.* – 1997. – №96. – P. 1102-8.
170. Thøgersen A. M. High plasminogen activator inhibitor and tissue plasminogen activator levels in plasma precede a first acute myocardial infarction in both men and women: evidence for the fibrinolytic system as an independent primary risk factor / Thøgersen A. M., Jansson J. H., Boman K. et al.// *Circulation.* – 1998. – №98. – P. 2241-7.
171. Smith F. B. Hemostatic factors as predictors of ischemic heart disease and stroke in the Edinburgh Artery Study / Smith F. B., Lee A. J., Fowkes F. G. et al.// *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 1997. – №17. – P. 3321-5.
172. Kawecki C. von Willebrand factor and inflammation / Kawecki C., Lenting P. J., Denis C. V.// *J Thromb Haemost.* – 2017. – №15. – P. 1285-1294.
173. Lv J. X. Current advances in circulating inflammatory biomarkers in atherosclerosis and related cardio-cerebrovascular diseases / Lv J. X., Kong Q., Ma X.// *Chronic Dis Transl Med.* – 2017. – №3. – P. 207-212.
174. Padilla A. P-selectin anchors newly released ultralarge von Willebrand factor multimers to the endothelial cell surface / Padilla A., Moake J. L., Bernardo A. et al.// *Blood.* – 2004. – №103. – P. 2150-6.
175. Grünewald M. P-selectin modulation in haemostasis: one size fits all? / Grünewald M., Griesshammer M.// *Trends Mol Med.* – 2004. – №10. – P. 9-12.

176. Bernardo A. Platelets adhered to endothelial cell-bound ultra-large von Willebrand factor strings support leukocyte tethering and rolling under high shear stress / Bernardo A., Ball C., Nolasco L. et al.// *J Thromb Haemost.* – 2005. – №3. – P. 562-70.
177. Petri B. von Willebrand factor promotes leukocyte extravasation / Petri B., Broermann A., Li H. et al.// *Blood.* – 2010. – №116. – P. 4712-9.
178. Hillgruber C. Blocking von Willebrand factor for treatment of cutaneous inflammation / Hillgruber C., Steingraber A. K., Pöppelmann B. et al.// *J Invest Dermatol.* – 2014. – №134. – P. 77-86.
179. Aymé G. A Novel Single-Domain Antibody Against von Willebrand Factor A1 Domain Resolves Leukocyte Recruitment and Vascular Leakage During Inflammation- Brief Report / Aymé G., Adam F., Legendre P. et al.// *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 2017. – №37. – P. 1736-1740.
180. Khan M. M. ADAMTS13 reduces VWF-mediated acute inflammation following focal cerebral ischemia in mice / Khan M. M., Motto D. G., Lentz S. R., Chauhan A. K.// *J Thromb Haemost.* – 2012. – №10. – P. 1665-71.
181. De Meyer S. F. Protective anti-inflammatory effect of ADAMTS13 on myocardial ischemia/reperfusion injury in mice / De Meyer S. F., Savchenko A. S., Haas M. S. et al.// *Blood.* – 2012. – №120. – P. 5217-23.
182. Danesh J. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease / Danesh J., Wheeler J. G., Hirschfield G. M. et al.// *N Engl J Med.* – 2004. – №350. – P. 1387-97.
183. Warlo E. M. K. vWF/ADAMTS13 is associated with on-aspirin residual platelet reactivity and clinical outcome in patients with stable coronary artery disease / Warlo E. M. K., Pettersen A. R., Arnesen H., Seljeflot I.// *Thromb J.* – 2017. – №15. – P. 28.
184. Price J. F. between smoking and cardiovascular risk factors in the development of peripheral arterial disease and coronary artery disease: Edinburgh Artery Study / Price J. F., Mowbray P. I., Lee A. J. et al.// *Eur Heart J.* – 1999. – №20. – P. 344-53.
185. Stehouwer C. D. Urinary albumin excretion, cardiovascular disease, and endothelial dysfunction in non-insulin-dependent diabetes mellitus / Stehouwer C. D., Nauta J. J., Zeldenrust G. C. et al.// *Lancet.* – 1992. – №340. – P. 319-23.

186. Lip G. Y. Relation of endothelium, thrombogenesis, and hemorheology in systemic hypertension to ethnicity and left ventricular hypertrophy / Lip G. Y., Blann A. D., Jones A. F. et al.// *Am J Cardiol.* – 1997. – №80. – P. 1566-71.
187. Lee K. W. High pulse pressure and nondipping circadian blood pressure in patients with coronary artery disease: Relationship to thrombogenesis and endothelial damage/dysfunction / Lee K. W., Blann A. D., Lip G. Y.// *Am J Hypertens.* – 2005. – №18. – P. 104-15.
188. Vischer U. M. von Willebrand factor, endothelial dysfunction, and cardiovascular disease / Vischer U. M.// *J Thromb Haemost.* – 2006. – №4. – P. 1186-93.
189. Gonzales J. U. Exercise-induced shear stress is associated with changes in plasma von Willebrand factor in older humans / Gonzales J. U., Thistlethwaite J. R., Thompson B. C., Scheuermann B. W.// *Eur J Appl Physiol.* – 2009. – №106. – P. 779-84.
190. Kaufmann J. E. Vasopressin-induced von Willebrand factor secretion from endothelial cells involves V2 receptors and cAMP / Kaufmann J. E., Oksche A., Wollheim C. B. et al.// *J Clin Invest.* – 2000. – №106. – P. 107-16.
191. Montalescot G. Early increase of von Willebrand factor predicts adverse outcome in unstable coronary artery disease: beneficial effects of enoxaparin. French Investigators of the ESSENCE Trial / Montalescot G., Philippe F., Ankri A. et al.// *Circulation.* – 1998. – №98. – P. 294-9.
192. Bonetti P. O. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk / Bonetti P. O., Lerman L. O., Lerman A.// *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 2003. – №23. – P. 168-75.
193. Blann A. D. Altered levels of soluble adhesion molecules in rheumatoid arthritis, vasculitis and systemic sclerosis / Blann A. D., Herrick A., Jayson M. I.// *Br J Rheumatol.* – 1995. – №34. – P. 814-9.
194. Nossent J. C. Increased von Willebrand factor levels in patients with systemic lupus erythematosus reflect inflammation rather than increased propensity for platelet activation / Nossent J. C., Raymond W. D., Eilertsen G.// *Lupus Sci Med.* – 2016. – №3. – P. e000162.

195. Kefer J. M. Time course of release of inflammatory markers after coronary stenting: comparison between bare metal stent and sirolimus-eluting stent / Kefer J. M., Galanti L. M., Desmet S. et al.// *Coron Artery Dis.* – 2005. – №16. – P. 505-9.
196. Pottinger B. E. von Willebrand factor is an acute phase reactant in man / Pottinger B. E., Read R. C., Paleolog E. M. et al.// *Thromb Res.* – 1989. – №53. – P. 387-94.
197. Schoeman R. M. Flow chamber and microfluidic approaches for measuring thrombus formation in genetic bleeding disorders / Schoeman R. M., Lehmann M., Neeves K. B.// *Platelets.* – 2017. – №28. – P. 463-471.
198. Brazilek R. J. Application of a strain rate gradient microfluidic device to von Willebrand's disease screening / Brazilek R. J., Tovar-Lopez F. J., Wong A. K. T. et al.// *Lab Chip.* – 2017. – №17. – P. 2595-2608.
199. Sobel M. Heparin inhibition of von Willebrand factor-dependent platelet function in vitro and in vivo / Sobel M., McNeill P. M., Carlson P. L. et al.// *J Clin Invest.* – 1991. – №87. – P. 1787-93.
200. Kageyama S. Anti-human vWF monoclonal antibody, AJvW-2 Fab, inhibits repetitive coronary artery thrombosis without bleeding time prolongation in dogs / Kageyama S., Yamamoto H., Nakazawa H., Yoshimoto R.// *Thromb Res.* – 2001. – №101. – P. 395-404.
201. Eto K. AJvW-2, an anti-vWF monoclonal antibody, inhibits enhanced platelet aggregation induced by high shear stress in platelet-rich plasma from patients with acute coronary syndromes / Eto K., Isshiki T., Yamamoto H. et al.// *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 1999. – №19. – P. 877-82.
202. Markus H. S. The von Willebrand inhibitor ARC1779 reduces cerebral embolization after carotid endarterectomy: a randomized trial / Markus H. S., McCollum C., Imray C. et al.// *Stroke.* – 2011. – №42. – P. 2149-53.
203. Matsumoto M. Development of a novel aptamer blocking the interaction between the VWF A1 domain and platelet GP Ib for the treatment of arterial thrombosis / Matsumoto M., Harada K.// *Rinsho Ketsueki.* – 2022. – №63. – P. 393-402.
204. Sakai K. Novel aptamer to von Willebrand factor A1 domain (TAGX-0004) shows total inhibition of thrombus formation superior to ARC1779 and comparable to

- caplacizumab / Sakai K., Someya T., Harada K. et al.// *Haematologica*. – 2020. – №105. – P. 2631-2638.
205. Kovacevic K. D. The aptamer BT200 effectively inhibits von Willebrand factor (VWF) dependent platelet function after stimulated VWF release by desmopressin or endotoxin / Kovacevic K. D., Buchtele N., Schoergenhofer C. et al.// *Sci Rep*. – 2020. – №10. – P. 11180.
206. Kovacevic K. D. von Willebrand Factor Predicts Mortality in ACS Patients Treated with Potent P2Y12 Antagonists and is Inhibited by Aptamer BT200 Ex Vivo / Kovacevic K. D., Jilma B., Zhu S. et al.// *Thromb Haemost*. – 2020. – №120. – P. 1282-1290.
207. Nimjee S. M. Preclinical Development of a vWF Aptamer to Limit Thrombosis and Engender Arterial Recanalization of Occluded Vessels / Nimjee S. M., Dornbos D., 3rd, Pitoc G. A. et al.// *Mol Ther*. – 2019. – №27. – P. 1228-1241.
208. Li T. T. A novel snake venom-derived GPIIb antagonist, anfibatide, protects mice from acute experimental ischaemic stroke and reperfusion injury / Li T. T., Fan M. L., Hou S. X. et al.// *Br J Pharmacol*. – 2015. – №172. – P. 3904-16.
209. Chu W. Blockade of platelet glycoprotein receptor Ib ameliorates blood-brain barrier disruption following ischemic stroke via Epac pathway / Chu W., Sun X., Zhu X. et al.// *Biomed Pharmacother*. – 2021. – №140. – P. 111698.
210. Li B. X. In vitro assessment and phase I randomized clinical trial of anfibatide a snake venom derived anti-thrombotic agent targeting human platelet GPIIb α / Li B. X., Dai X., Xu X. R. et al.// *Sci Rep*. – 2021. – №11. – P. 11663.
211. Zheng B. Safety and efficacy of a platelet glycoprotein Ib inhibitor for patients with non-ST segment elevation myocardial infarction: A phase Ib/IIa study / Zheng B., Li J., Jiang J. et al.// *Pharmacotherapy*. – 2021. – №41. – P. 828-836.
212. van Loon J. E. The in vitro effect of the new antithrombotic drug candidate ALX-0081 on blood samples of patients undergoing percutaneous coronary intervention / van Loon J. E., de Jaegere P. P., Ulrichs H. et al.// *Thromb Haemost*. – 2011. – №106. – P. 165-71.
213. Bartunek J. Safety and efficacy of anti-von Willebrand Factor Nanobody® ALX-0081 in stable angina patients undergoing percutaneous coronary intervention / Bartunek

- J., Barbato E., Vercruyssen K. et al.// Book Safety and efficacy of anti-von Willebrand Factor Nanobody® ALX-0081 in stable angina patients undergoing percutaneous coronary intervention / Editor Am Heart Assoc, 2010.
214. Bartunek J. Novel antiplatelet agents: ALX-0081, a Nanobody directed towards von Willebrand factor / Bartunek J., Barbato E., Heyndrickx G. et al.// J Cardiovasc Transl Res. – 2013. – №6. – P. 355-63.
215. Witsch T. Recombinant Human ADAMTS13 Treatment Improves Myocardial Remodeling and Functionality After Pressure Overload Injury in Mice / Witsch T., Martinod K., Sorvillo N. et al.// J Am Heart Assoc. – 2018. – №7.
216. Mayer K. Efficacy and Safety of Revacept, a Novel Lesion-Directed Competitive Antagonist to Platelet Glycoprotein VI, in Patients Undergoing Elective Percutaneous Coronary Intervention for Stable Ischemic Heart Disease: The Randomized, Double-blind, Placebo-Controlled ISAR-PLASTER Phase 2 Trial / Mayer K., Hein-Rothweiler R., Schüpke S. et al.// JAMA Cardiol. – 2021. – №6. – P. 753-761.
217. Gröschel K. Revacept, an Inhibitor of Platelet Adhesion in Symptomatic Carotid Artery Stenosis: Design and Rationale of a Randomized Phase II Clinical Trial / Gröschel K., Uphaus T., Loftus I. et al.// TH Open. – 2020. – №4. – P. e393-e399.
218. Кобалава Ж. Артериальная гипертензия у взрослых. Клинические рекомендации 2020 / Кобалава Ж., Конради А., Недогода С. и др.// Российский кардиологический журнал. – 2020. – С. 149-218.
219. Авдеев С. Н. Клинические рекомендации. Хроническая обструктивная болезнь легких / Авдеев С. Н., Айсанов З. Р., Белевский А. С. и др.//. – 2007.
220. Cosentino F. 2019 Рекомендации ESC/EASD по сахарному диабету, предиабету и сердечно-сосудистым заболеваниям / Cosentino F., Grant P., Aboyans V. и др.// Российский кардиологический журнал. – 2020. – №25. – С. 3839.
221. Барбараш О. Стабильная ишемическая болезнь сердца. Клинические рекомендации 2020 / Барбараш О., Карпов Ю., Кашталап В. и др.// Российский кардиологический журнал. – 2020. – С. 201-250.
222. Кухарчук В. Клинические рекомендации евразийской ассоциации кардиологов (ЕАК)/Национального общества по изучению атеросклероза (НОА,

- Россия) по диагностике и коррекции нарушений липидного обмена с целью профилактики и лечения атеросклероза (2020) / Кухарчук В., Ежов М., Сергиенко И. и др.// Евразийский кардиологический журнал. – 2020. – С. 6-29.
223. Охота С. Опосредованная фактором фон Виллебранда адгезия тромбоцитов у пациентов с преждевременной ишемической болезнью сердца / Охота С., Козлов С., Автаева Ю. и др.// Кардиология. – 2023. – №63. – С. 55-60.
224. Власик Т. Н. Способ иммуноферментного анализа для определения фактора виллебранда, моноклональное антитело к фактору виллебранда (варианты) и штамм гибридных культивируемых клеток животных *mus. Musculus l.*-продуцент моноклональных антител к фактору виллебранда (варианты) / Власик Т. Н., Мазуров А. В., Хаспекова С. Г., Янушевская Е. В.// Книга, 2006.
225. Neeland I. J. Coronary angiographic scoring systems: an evaluation of their equivalence and validity / Neeland I. J., Patel R. S., Eshtehardi P. et al.// *Am Heart J.* – 2012. – №164. – P. 547-552.e1.
226. Jalowiec D. A. Myocardial infarction in the young and in women / Jalowiec D. A., Hill J. A.// *Cardiovasc Clin.* – 1989. – №20. – P. 197-206.
227. Sharma S. K. Premature coronary artery disease, risk factors, clinical presentation, angiography and interventions: Hospital based registry / Sharma S. K., Makkar J. S., Bana A. et al.// *Indian Heart J.* – 2022. – №74. – P. 391-397.
228. Gupta A. Trends in acute myocardial infarction in young patients and differences by sex and race, 2001 to 2010 / Gupta A., Wang Y., Spertus J. A. et al.// *J Am Coll Cardiol.* – 2014. – №64. – P. 337-45.
229. Arora S. Twenty Year Trends and Sex Differences in Young Adults Hospitalized With Acute Myocardial Infarction / Arora S., Stouffer G. A., Kucharska-Newton A. M. et al.// *Circulation.* – 2019. – №139. – P. 1047-1056.
230. Murata M. Low shear stress can initiate von Willebrand factor-dependent platelet aggregation in patients with type IIB and platelet-type von Willebrand disease / Murata M., Fukuyama M., Satoh K. et al.// *J Clin Invest.* – 1993. – №92. – P. 1555-8.
231. Varga-Szabo D. Calcium signaling in platelets / Varga-Szabo D., Braun A., Nieswandt B.// *J Thromb Haemost.* – 2009. – №7. – P. 1057-66.

232. Rebello S. S. Role of extracellular ionized calcium in the in vitro assessment of GPIIb/IIIa receptor antagonists / Rebello S. S., Huang J., Faul J. D., Lucchesi B. R.// *J Thromb Thrombolysis*. – 2000. – №9. – P. 23-8.
233. Охота С. Адгезия тромбоцитов, опосредованная фактором фон Виллебранда, у пациентов с ранним развитием ишемической болезни сердца / Охота С., Козлов С., Автаева Ю. и др.// *Атеросклероз и Дислипидемии*. – 2023. – С. 54-64.
234. Chen Y. An integrin $\alpha(\text{IIb})\beta(3)$ intermediate affinity state mediates biomechanical platelet aggregation / Chen Y., Ju L. A., Zhou F. et al.// *Nat Mater*. – 2019. – №18. – P. 760-769.
235. Veen G. Culprit lesion morphology and stenosis severity in the prediction of reocclusion after coronary thrombolysis: angiographic results of the APRICOT study. *Antithrombotics in the Prevention of Reocclusion in Coronary Thrombolysis* / Veen G., Meyer A., Verheugt F. W. et al.// *J Am Coll Cardiol*. – 1993. – №22. – P. 1755-62.
236. Barstad R. M. Reduced effect of aspirin on thrombus formation at high shear and disturbed laminar blood flow / Barstad R. M., Orvim U., Hamers M. J. et al.// *Thromb Haemost*. – 1996. – №75. – P. 827-32.
237. Maalej N. Increased shear stress overcomes the antithrombotic platelet inhibitory effect of aspirin in stenosed dog coronary arteries / Maalej N., Folts J. D.// *Circulation*. – 1996. – №93. – P. 1201-5.
238. Weiss H. J. Prostacyclin (prostaglandin I₂, PGI₂) inhibits platelet adhesion and thrombus formation on subendothelium / Weiss H. J., Turitto V. T.// *Blood*. – 1979. – №53. – P. 244-50.
239. Borgdorff P. Cyclooxygenase-2 inhibitors enhance shear stress-induced platelet aggregation / Borgdorff P., Tangelder G. J., Paulus W. J.// *J Am Coll Cardiol*. – 2006. – №48. – P. 817-23.
240. Topper J. N. Identification of vascular endothelial genes differentially responsive to fluid mechanical stimuli: cyclooxygenase-2, manganese superoxide dismutase, and endothelial cell nitric oxide synthase are selectively up-regulated by steady laminar shear stress / Topper J. N., Cai J., Falb D., Gimbrone M. A., Jr.// *Proc Natl Acad Sci U S A*. – 1996. – №93. – P. 10417-22.

241. Roald H. E. Clopidogrel--a platelet inhibitor which inhibits thrombogenesis in non-anticoagulated human blood independently of the blood flow conditions / Roald H. E., Barstad R. M., Kierulf P. et al.// *Thromb Haemost.* – 1994. – №71. – P. 655-62.
242. Roald H. E. Axial dependence of collagen-induced thrombus formation in flowing non-anticoagulated human blood. Anti-platelet drugs impair thrombus growth and increase platelet-collagen adhesion / Roald H. E., Sakariassen K. S.// *Thromb Haemost.* – 1995. – №73. – P. 126-31.
243. Roald H. E. Modulation of thrombotic responses in moderately stenosed arteries by cigarette smoking and aspirin ingestion / Roald H. E., Orvim U., Bakken I. J. et al.// *Arterioscler Thromb.* – 1994. – №14. – P. 617-21.
244. Turner N. A. Blockade of adenosine diphosphate receptors P2Y(12) and P2Y(1) is required to inhibit platelet aggregation in whole blood under flow / Turner N. A., Moake J. L., McIntire L. V.// *Blood.* – 2001. – №98. – P. 3340-5.
245. Hovens M. M. Prevalence of persistent platelet reactivity despite use of aspirin: a systematic review / Hovens M. M., Snoep J. D., Eikenboom J. C. et al.// *Am Heart J.* – 2007. – №153. – P. 175-81.
246. Michos E. D. Aspirin and clopidogrel resistance // *Mayo Clinic Proceedings.* – T. 81 –Elsevier, 2006. – C. 518-526.
247. Remijn J. A. Role of ADP receptor P2Y(12) in platelet adhesion and thrombus formation in flowing blood / Remijn J. A., Wu Y. P., Jeninga E. H. et al.// *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 2002. – №22. – P. 686-91.
248. Haining E. J. GPVI and CLEC-2 / Haining E. J., Nicolson P. L., Onselae M.-B. et al. // *Platelets*Elsevier, 2019. – P. 213-226.
249. Matus V. An adenine insertion in exon 6 of human GP6 generates a truncated protein associated with a bleeding disorder in four Chilean families / Matus V., Valenzuela G., Sáez C. G. et al.// *J Thromb Haemost.* – 2013. – №11. – P. 1751-9.
250. Arthur J. F. Platelet glycoprotein VI-related clinical defects / Arthur J. F., Dunkley S., Andrews R. K.// *Br J Haematol.* – 2007. – №139. – P. 363-72.

251. Bigalke B. Platelet glycoprotein VI (GPVI) for early identification of acute coronary syndrome in patients with chest pain / Bigalke B., Haap M., Stellos K. et al.// *Thromb Res.* – 2010. – №125. – P. e184-9.
252. Bigalke B. Glycoprotein VI as a prognostic biomarker for cardiovascular death in patients with symptomatic coronary artery disease / Bigalke B., Stellos K., Geisler T. et al.// *Clin Res Cardiol.* – 2010. – №99. – P. 227-33.
253. Lebozec K. Design, development and characterization of ACT017, a humanized Fab that blocks platelet's glycoprotein VI function without causing bleeding risks / Lebozec K., Jandrot-Perrus M., Avenard G. et al.// *MABs.* – 2017. – №9. – P. 945-958.
254. Renaud L. Population Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Modeling of Glencicimab (ACT017) a Glycoprotein VI Inhibitor of Collagen-Induced Platelet Aggregation / Renaud L., Lebozec K., Voors-Pette C. et al.// *J Clin Pharmacol.* – 2020. – №60. – P. 1198-1208.
255. Chen Z. Shear-induced platelet receptor shedding by non-physiological high shear stress with short exposure time: glycoprotein Iba and glycoprotein VI / Chen Z., Mondal N. K., Ding J. et al.// *Thromb Res.* – 2015. – №135. – P. 692-8.