

Гипергомоцистеинемия как фактор снижения фибринолитического потенциала при активированном внутрисосудистом свертывании

Т.Ф. Субботина, А.А. Жлоба

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

Субботина Т.Ф. — доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией биохимического мониторинга отдела биохимии научно-исследовательского центра ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России (ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова), ведущий научный сотрудник группы протеомики Института молекулярной биологии и генетики ФГБУ «Федеральный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Минздрава России (ФМИЦ им. В.А. Алмазова); Жлоба А.А. — доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела биохимии научно-исследовательского центра ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, руководитель группы протеомики Института молекулярной биологии и генетики ФМИЦ им. В.А. Алмазова.

Контактная информация: ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, ул. Л. Толстого, д. 6–8, Санкт-Петербург, Россия, 197022. E-mail: subbotina2002@mail.ru (Субботина Татьяна Федоровна).

Резюме

Актуальность. Высокая концентрация в крови D-димера является надежным маркером активации внутрисосудистого свертывания, однако не дает однозначной информации о функциональном потенциале системы фибринолиза. **Цель настоящего исследования** заключалась в выяснении вклада гипергомоцистеинемии (ГГци) в нарушения фибринолиза при активированном внутрисосудистом свертывании. **Материалы и методы.** Исследованы образцы плазмы 141 пациента с активированным внутрисосудистым свертыванием различной этиологии [82 женщины (58,2 %) и 59 мужчин (41,8 %), средний возраст $53,2 \pm 7,8$ года] с уровнем D-димера > 500 нг/мл, в которых определяли уровень общего гомотеина (oГци) с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии. В 57 образцах из общей выборки проведено исследование фибринолитического потенциала с помощью турбидиметрического глобального теста свертывания и фибринолиза с использованием в качестве индукторов тромбина и тканевого активатора плазминогена. Группой сравнения послужили 20 образцов плазмы доноров, подобранных по возрасту и полу. **Результаты.** У 52 пациентов (36,9 %) из общей выборки уровень oГци превышал 12 μ M, то есть отмечалась умеренная ГГци. У 29 пациентов (50,9 % обследованных) активация внутрисосудистого свертывания сочеталась с гипофибринолизом, причем частота ГГци в этой группе достигает 58,6 %. В общей выборке обнаружена сильная связь между временем фибринолиза и концентрацией oГци ($R_s = 0,564$, $p = 0,0001$). **Заключение.** Таким образом, представляется, что умеренная ГГци является не только одним из факторов риска развития активации внутрисосудистого свертывания, но и вызывает торможение фибринолиза при данном патологическом состоянии.

Ключевые слова: гомотеин, фибринолиз, внутрисосудистое свертывание.

Hyperhomocysteinemia as a factor of fibrinolysis disturbances in patients with activated intravascular coagulation

T.F. Subbotina, A.A. Zhloba

The First Pavlov St Petersburg State Medical University, St Petersburg, Russia
Federal Almazov Medical Research Centre, St Petersburg, Russia

Corresponding author: The First Pavlov St Petersburg State Medical University, 6–8 L. Tolstoy, St Petersburg, Russia, 197022. E-mail: subbotina2002@mail.ru (Tatiana F. Subbotina, MD, PhD, Professor, the Head of the Laboratory of Biochemical Monitoring at the Biochemical Department of the Research Centre of the First Pavlov St Petersburg State Medical University).

Abstract

Background. High blood concentration of D-dimer is a reliable marker of activation of intravascular coagulation, but does not provide unambiguous information about the functional potential of the fibrinolytic system. **Objective.** To determine the contribution of hyperhomocysteinemia (HHcy) in fibrinolysis disturbances in patients with activated intravascular coagulation. **Design and methods.** Plasma samples of 141 patients with activated intravascular coagulation of various etiologies [82 women (58,2 %) and 59 men (41,8 %), mean age $53,2 \pm 7,8$ years] with the level of D-dimer > 500 ng/ml were studied. The level of total Hcy (tHcy) was determined by high-performance liquid chromatography. In 57 samples fibrinolytic capacity was investigated by turbidimetric global coagulation and fibrinolysis test using as inducers thrombin and tissue plasminogen activator, respectively. 20 samples of donors matched for age and sex served as a comparison group. **Results.** In 52 patients (36,9 % of the total sample) tHcy level was greater than $12 \mu\text{M}$, thus a modest HHcy was observed. In 29 patients (50,9 % of the patients tested for fibrinolysis capacity) the activation of intravascular coagulation was combined with hypofibrinolysis, and the frequency of HHcy in this group reached 58,6 %. A strong correlation between the time of fibrinolysis and tHcy concentration was found ($R_s = 0,564$, $p = 0,0001$). **Conclusion.** Thus, it appears that moderate HHcy is not only one of the risk factors for the activation of intravascular coagulation, but also causes inhibition of fibrinolysis in this pathology.

Key words: homocysteine, fibrinolysis, intravascular coagulation.

Статья поступила в редакцию: 13.08.13. и принята к печати: 21.08.13.

Введение

Концентрация в крови D-димера — конечно-продукта лизиса поперечно-сшитого фибрина плазмином — используется в клинических исследованиях в качестве надежного и чувствительного маркера активации внутрисосудистого свертывания и индуцируемого этим процессом (то есть вторично-активируемого) фибринолиза. Определение уровня D-димера было надежно апробировано в диагностике тромбоза глубоких вен, тромбоэмболии легочной артерии, тромботических осложнений атеросклероза, гестоза и других осложнений беременности, аутоиммунных воспалительных процессах [1]. Вместе с тем этот показатель нельзя признать надежной характеристикой функционального потенциала фибринолитической системы, поскольку концентрация D-димера в крови, в первую очередь, определяется распространенностью и локализацией тромботического процесса. Высокий уровень D-димера не исключает состояния гипофибринолиза [2, 3], он является лишь указанием на распространенные отложения стабилизированного фибрина, в лизисе которого могут участвовать не только плазмин, но и другие протеиназы, в частности, эластаза и катепсин G нейтрофильных гранулоцитов [4].

Нарушения фибринолиза при активированном внутрисосудистом свертывании могут иметь самое различное происхождение, поскольку фибринолиз является многокомпонентным и сложно регулируемым процессом. Это могут быть нарушения

активности или количества тканевого активатора плазминогена (т-АП) [2]; повышенная секреция его ингибитора (ИАП-1) вследствие эндотелиальной дисфункции; резистентность фибриновых отложений к фибринолизу вследствие генетических особенностей фибриногена, либо воздействия других компонентов крови [5].

Исследования последних лет показывают, что одним из факторов, оказывающих неблагоприятное действие на процесс фибринолиза, может являться повышенный уровень гомоцистеина (Гци). Так, исследование, охватившее 3216 индивидуумов, не страдающих сердечно-сосудистыми заболеваниями (Framingham Offspring Study, cycle 5), выявило ассоциацию повышенного уровня Гци с возрастанием содержания в крови ИАП-1, т-АП антигена, фактора фон Виллебранда и фибриногена [6], что характеризуется как протромботическое состояние. В ряде работ *in vitro* доказано, что, помимо широко известных свойств Гци вступать в реакции тиол-дисульфидного обмена с SH-группами белков, Гци в форме тиолактона способен к взаимодействию с первичными аминами. Продукты реакции Гци-тиолактона с лизином, в частности, с лизиновыми остатками фибриногена, образуются *in vivo*. В процессе коагуляции гомоцистеинилированный по остаткам лизина фибрин связывает т-АП и плазминоген, однако активация последнего происходит медленнее [7]. Другие авторы *in vitro* не выявили отрицательного воздействия Гци на биологические

свойства плазминогена, плазмина, т-АП и у-АП, однако показали, что в присутствии повышенной концентрации Гци образуются более тонкие, разветвленные и компактные фибриновые волокна, резистентные к фибринолизу [8]. Это может быть объяснено тем, что N-гомоцистеинилирование вводит в состав фибриногена дополнительные сульфгидрильные группы, что может привести к изменению агрегационных свойств фибрина.

Цель настоящего исследования заключалась в выяснении реального вклада гипергомоцистеинемии (ГГци) в нарушения фибринолиза при активированном внутрисосудистом свертывании. Для этого были использованы образцы плазмы пациентов с активированным внутрисосудистым свертыванием различной этиологии, в которых определяли уровень общего Гци (оГци), а потенциал системы фибринолиза характеризовали с помощью турбидиметрического глобального теста свертывания и фибринолиза. В связи с тем, что Гци имеет большое сродство к SH-группам альбумина и вызывает активацию их окисления, было целесообразным также определить в образцах количество свободных тиоловых групп.

Материалы и методы

Характеристика образцов

В исследовании были использованы образцы бедной тромбоцитами цитратной плазмы пациентов, находившихся на стационарном лечении в клиниках ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации с марта 2011 года по май 2012 года, которым по назначению лечащего врача выполняли исследование уровня D-димера. Кровь брали из локтевой вены утром натощак и анализировали в течение 1 часа после взятия. В наше исследование был включен 141 образец оставшейся после анализа плазмы [82 женщины (58,2 %) и 59 мужчин (41,8 %), средний возраст $53,2 \pm 7,8$ года] с уровнем D-димера, превышавшим 500 нг/мл. Беременные и женщины, принимавшие оральные контрацептивы, в исследование не включались. Турбидиметрическое исследование фибринообразования и фибринолиза было выполнено у 57 пациентов из общей выборки. Оно включало образцы 33 женщин и 24 мужчин (средний возраст $50,6 \pm 5,7$ года). В качестве контроля исследовано 20 аналогичным образом полученных образцов здоровых лиц, подобранных по возрасту и полу: 12 женщин и 8 мужчин (средний возраст $57,9 \pm 2,5$ года). Образцы были предоставлены донорским пунктом ГБОУ ВПО

«Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Все перечисленные группы не различались по полу и возрасту.

Определение D-димера

Концентрацию D-димера определяли количественно с помощью наборов Smart D-dimer test (Eurolyser Diagnostica GmbH, Австрия). В наборе использованы моноклональные антитела, агглютинированные на частицах латекса; турбидиметрическая регистрация при 700 нм.

Определение общего гоомоцистеина

Концентрацию оГци определяли с помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии согласно методу, описанному ранее [9], на хроматографе Agilent 1100 (США). Использована колонка Zorbax XDB C18 (250 x 4,6) мм, УФ-детекция при 330 нм.

Турбидиметрическая регистрация свертывания и фибринолиза

Турбидиметрическую регистрацию проводили в соответствии с описанным ранее методом [10] с небольшими модификациями; 0,1 мл образца плазмы разводили в 20 раз изотоническим натрий-барбиталовым буфером, pH = 7,4, содержащим 1 мМ хлорид кальция. В качестве индуктора фибринообразования использовали 0,5 единиц НИН тромбина человека («Технология-Стандарт», Россия), а в качестве индуктора фибринолиза добавляли т-АП (Actilyse; Boehringer Ingelheim, Германия) в конечной концентрации 25 нг/мл. Динамику изменения оптической плотности регистрировали при длине волны 340 нм при 37 °С на спектрофотометре СФ2000 (Россия). Расчет показателей включал определение времени свертывания (СТ — clotting time) — от начала регистрации до достижения максимальной оптической плотности — и время фибринолиза (CLT — clot lysis time) — от начала регистрации до снижения оптической плотности на 50 % от максимума. Регистрировалось также значение максимальной оптической плотности (ΔAbs).

Концентрацию свободных тиоловых групп определяли с помощью модифицированного метода Элмана [11].

Статистические методы

Анализ проводили с использованием пакета статистических программ SPSS 16.0. Поскольку подавляющее большинство исследуемых параметров имело распределение, резко отличающееся от нормального, были использованы непараметрические методы. Для характеристики данных использовали значения медиан и 25–75%-го межквартильного размаха, оценку значимости различий проводили с

помощью теста Манна-Уитни, а взаимосвязи оценивали путем вычисления коэффициента ранговой корреляции Спирмена Rs. Критический уровень значимости (p) при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05.

Результаты

Общий гомоцистеин

В общей выборке образцов пациентов с активированным внутрисосудистым свертыванием (n = 141) уровень D-димера составил 1143 (725–2000) нг/мл, а концентрация оГци — 9,4 (6,1–14,1) μМ. Корреляция между этими показателями отсутствовала. Обращала на себя внимание большая вариабельность показателя оГци с минимумом 2,1 и максимумом 63,1 μМ, чего не отмечалось в образцах контрольной группы: 10,6 (7,9–11,7) μМ. Значимых различий между выборками обнаружено не было. Тем не менее у 52 пациентов (36,9 %) уровень оГци превышал верхний квартиль контрольной группы. Таким образом, принимая за точку cutoff значение 75-го перцентиля оГци = 12 μМ, следует заключить, что у значительного числа пациентов отмечалась умеренная ГГци. Среди них оказалось 30 мужчин, что составило 57,7 % от числа пациентов с ГГци, тогда как в общей выборке мужчин было только 41,8 %.

Фибринообразование и фибринолиз

Результаты, полученные при турбидиметрическом исследовании образцов, и другие данные представлены в таблице. Турбидиметрические по-

казатели всей группы пациентов с активированным внутрисосудистым свертыванием (n = 57) значительно не отличаются от параметров контрольной группы, однако характеризуются широкой вариабельностью, в особенности время фибринолиза CLT. Межквартильный размах этого показателя у пациентов (340–451 с) более чем в три раза превышает таковой в контрольной группе (362–392 с). На гистограмме CLT пациентов (рис. 1) отмечается два максимума, соответствующих ускоренному (340–360 с) и замедленному (480–500 с) фибринолизу. Таким образом, по функциональному состоянию фибринолиза исследуемая группа неоднородна. Это дает основание разделить ее на две соответствующие подгруппы. Границей между ними принято значение CLT = 395 с, которое хорошо согласуется с гистограммой (рис. 1) и одновременно соответствует 90-му перцентилю контрольной группы. Из данных таблицы видно, что образцы пациентов с пролонгированным фибринолизом в сравнении с образцами пациентов с нормальным или ускоренным фибринолизом характеризуются более высокой максимальной оптической плотностью (p = 0,026) и более высокими уровнями оГци (p = 0,0001) при существенно пониженном содержании SH-групп (p = 0,022). Уровень D-димера в этой подгруппе также выше, однако различия не достигают статистической значимости (p = 0,065). Показатели CLT, ΔAbs и оГци пациентов с гипофибринолизом значительно отличаются также от контрольной группы.

Более наглядно распределение концентраций оГци в группах наблюдений показано на рисунке 2.

Рисунок 1. Гистограмма времени фибринолиза у пациентов с активированным внутрисосудистым свертыванием имеет два максимума, соответствующих ускоренному и замедленному фибринолизу

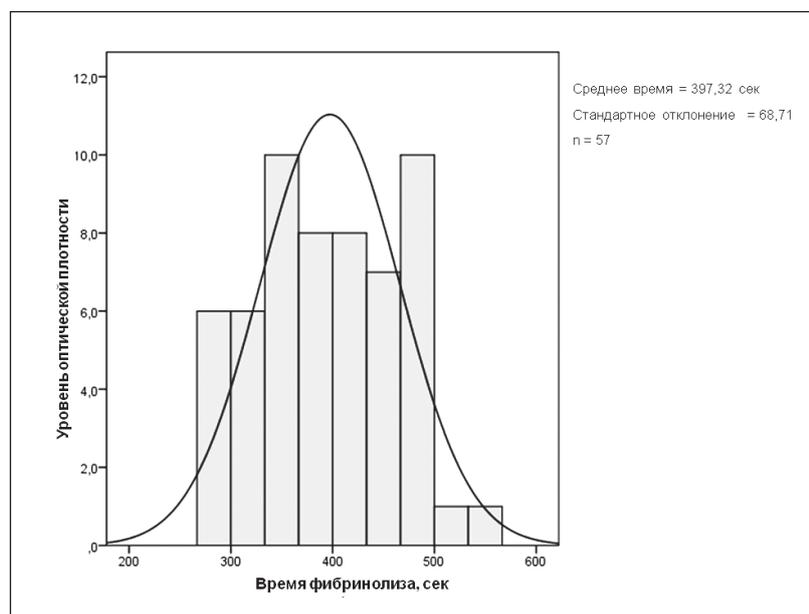
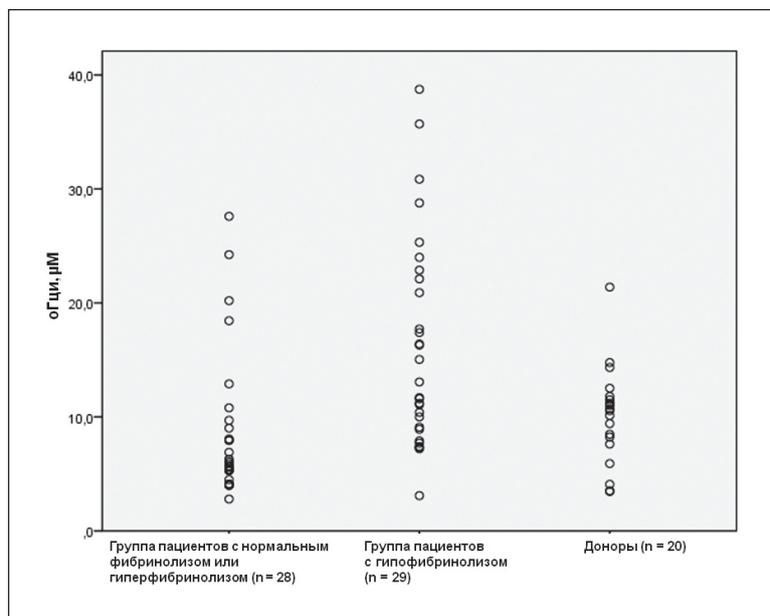


Рисунок 2. Диаграмма рассеяния концентраций общего гомоцистеина у пациентов с активированным внутрисосудистым свертыванием и различными функциональными характеристиками фибринолиза в сравнении с контрольной группой (доноры)



Примечание: оГци — общий гомоцистеин.

ГГци отмечается только у 5 пациентов с нормальным или ускоренным фибринолизом (17,9 %) и у 17 (58,6 %) пациентов с гипофибринолизом.

Взаимосвязи между показателями

В представленной выборке пациентов наиболее сильная связь обнаружена между временем фибринолиза CLT и концентрацией оГци ($R_s = 0,564$, $p = 0,0001$). Со временем фибринолиза также значительно коррелирует уровень D-димера ($R_s = 0,313$, $p = 0,018$). Максимальная оптическая плотность сгустка отрицательно коррелирует со временем свертывания СТ и с содержанием свободных тиоловых групп ($R_s = -0,419$, $p = 0,001$ и $R_s = -0,345$, $p = 0,039$ соответственно). Наконец, обнаружена отрицательная связь оГци и тиоловых групп, хотя уровень значимости немного превышает пороговое значение ($R_s = -0,315$, $p = 0,052$). При разделении выборки на подгруппы соответственно длительности фибринолиза характер корреляций сохраняется в обеих подгруппах, однако есть некоторые особенности. В подгруппе с нормальным или укороченным временем фибринолиза обнаруживается значимая корреляция показателей СТ и CLT ($R_s = 0,658$, $p = 0,0001$), отсутствующая в общей выборке, а в подгруппе с пролонгированным фибринолизом корреляция уровня D-димера и показателя CLT близка к нулю ($R_s = 0,074$); корреляция же оГци и времени фибринолиза значительно ослабляется и не достигает значимого уровня ($R_s = 0,251$, $p = 0,189$).

Обсуждение

В общей выборке из 141 пациента с активацией внутрисосудистого свертывания и уровнем D-димера > 500 нг/мл частота ГГци составила 36,9 %, она носила умеренный характер и отмечалась преимущественно у мужчин. Таким образом, ГГци можно рассматривать в качестве одного из факторов риска развития данного нарушения гемостаза. Наше исследование не выявило ассоциации уровня оГци и времени свертывания СТ. Однако в использованной нами тестовой системе, где в качестве индуктора свертывания использовали тромбин, такой результат показывает лишь то, что мы не обнаружили влияния Гци на процесс агрегации фибриновых волокон. Наиболее вероятным представляется, что протромботический эффект Гци опосредуется его действием на предшествующие звенья коагуляционного каскада, на эндотелиальные клетки и тромбоциты. Так, S-гомоцистеинилирование фактора V приводит к тому, что образующийся из него под действием тромбина фактор Va более устойчив к инактивации и, таким образом, пролонгирует действие тромбина на его основной субстрат — фибриноген [12]. Нельзя исключить также известное влияние гомоцистеина на ускорение окислительных реакций. В настоящем исследовании показано, что пролонгирование фибринолиза при активированном внутрисосудистом свертывании ассоциировано также с пониженным содержанием свободных

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ В ОБЩЕЙ ГРУППЕ ПАЦИЕНТОВ И ПРИ РАЗДЕЛЕНИИ ЕЕ НА ПОДГРУППЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ДЛИТЕЛЬНОСТИ ФИБРИНОЛИЗА В СРАВНЕНИИ С КОНТРОЛЕМ

Показатель	Все пациенты (n = 57)	Пациенты с CLT < 395 с (n = 28)	Пациенты с CLT > 395 с (n = 29)	Контрольная группа (n = 20)
СТ, с	75 (68–83)	75,5 (69–83,5)	75 (67–83)	80 (75–88)
CLT, с	395 (340–451)	339 (319–361)	451*.# (425–488)	377,5 (362–392)
ΔAbs 340, нм	0,210 (0,166–0,283)	0,185 (0,147–0,245)	0,220*.# (0,186–0,400)	0,181 (0,162–0,200)
D-димер, нг/мл	1000* (700–2000)	861* (675–1618)	1500* (800–2300)	< 250
oГци, μМ	9,1 (5,9–17,4)	6,0 (4,9–9,4)	13,1*.# (9,1–22,1)	10,6 (7,9–11,7)
SH-группы, μМ	121,1 (96,4–150)	136,9 (105,6–168,9)	106,1*.# (57,4–141,4)	178,8 (128,7–226,1)

Примечание: СТ — время свертывания; CLT — время фибринолиза; ΔAbs — максимальная оптическая плотность; oГци — общий гомоцистеин; * — $p < 0,05$ в сравнении с контрольной группой; # — $p < 0,05$ в сравнении с группой пациентов без замедления фибринолиза. Приведены значения медиан (25–75%-й межквартильный размах).

сульфгидрильных групп, причем существует отрицательная связь между их уровнем и концентрацией oГци. Снижение антиоксидантного потенциала плазмы является дополнительным фактором ГГци, усиливающим отрицательные влияния на эндотелиальные клетки и тромбоциты. В частности, одним из метаболических последствий в эндотелиальных клетках является снижение доступности тетрагидробиоптерина, что вызывает понижение активности эндотелиальной NO-синтазы и, в результате, угнетение продукции оксида азота с одновременным повышением образования пероксинитрита [13]. Нами выявлена отрицательная корреляция максимальной оптической плотности ΔAbs и уровня свободных сульфгидрильных групп. Вероятно, наряду с внутриклеточными эффектами ГГци, имеющая место окислительная модификация белковых и липидных компонентов плазмы может привести к модификации свойств фибринового сгустка и понижению его доступности для фибринолиза.

Анализ частоты выявления ГГци в зависимости от длительности фибринолиза показывает, что среди пациентов с пролонгированным фибринолизом частота ГГци составляет более половины (58,6 %) наблюдений (рис. 2). Таким образом, представляется, что умеренная ГГци не только выполняет функцию активации внутрисосудистого свертывания, но и вызывает торможение фибринолиза при данном патологическом состоянии. Ингибирующее воздействие повышенных концентраций Гци на

активность фибринолиза может обеспечиваться различными путями. Например, известно, что Гци облегчает присоединение липопротеина (а) к т-АП-связывающим участкам фибрина, тем самым замедляя активацию плазминогена и последующий фибринолиз [14]. Выявленная в настоящем исследовании прямая корреляция уровня oГци и длительности фибринолиза была отмечена и другими авторами [15]. Согласно представленным данным, взаимосвязь, демонстрирующая модулирующее воздействие Гци на фибринолиз, была значимой только в группах пациентов с нормальным или ускоренным фибринолизом, а также в группе доноров, но отсутствовала в группе пациентов с гипофибринолизом, то есть как раз там, где уровень oГци был выше (табл.). Это позволяет прийти к выводу о том, что Гци в нормальных концентрациях является одним из многочисленных факторов, определяющих длительность фибринолиза.

Выводы

В настоящем исследовании мы показали, что состояние активации внутрисосудистого свертывания и фибринолиза, тестируемое по уровню D-димера, весьма часто ассоциировано с повышенной концентрацией oГци.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов.

Литература

1. Tripodi A. D-dimer testing in laboratory practice // *Clin. Chem.* — 2011. — Vol. 57, № 9. — P. 1256–1262.
2. Yurdakul S., Hekim N., Soysal T. et al. Fibrinolytic activity and d-dimer levels in Behçet's syndrome // *Clin. Exp. Rheumatol.* — 2005. — Vol. 23, suppl. 38. — P. S53–S58.
3. Undas A., Zawilska K., Ciesla-Dul M. et al. Altered fibrin clot structure/function in patients with idiopathic venous thromboembolism and in their relatives // *Blood.* — 2009. — Vol. 114, № 19. — P. 4272–4278.
4. Matsumoto T., Wada H., Nobori T. et al. Elevated plasma levels of fibrin degradation products by granulocyte-derived elastase in patients with disseminated intravascular coagulation // *Clin. Appl. Thromb. Hemost.* — 2005. — Vol. 11, № 4. — P. 391–400.
5. Okraska-Bylica A., Wilkosz T., Słowik L., Bazanek M., Konieczńska M., Undas A. Altered fibrin clot properties in patients with premature peripheral artery disease // *Pol. Arch. Med. Wewn.* — 2012. — Vol. 122, № 12. — P. 608–615.
6. Tofler G.H., D'Agostino R.B., Jacques P.F. et al. Association between increased homocysteine levels and impaired fibrinolytic potential: potential mechanism for cardiovascular risk // *Thromb. Haemost.* — 2002. — Vol. 88, № 5. — P. 799–804.
7. Sauls D.L., Lockhart E., Warren M.E., Lenkowski A., Wilhelm S.E., Hoffman M. Modification of fibrinogen by homocysteine thiolactone increases resistance to fibrinolysis: a potential mechanism of the thrombotic tendency in hyperhomocysteinemia // *Biochemistry.* — 2006. — Vol. 45, № 8. — P. 2480–2487.
8. Lauricella A.M., Quintana I., Castañon M., Sassetti B., Kordich L. Influence of homocysteine on fibrin network lysis // *Blood Coagul. Fibrinolysis.* — 2006. — Vol. 17, № 3. — P. 181–186.
9. Zhloba A.A., Blashko E.L. Liquid chromatographic determination of total homocysteine in blood plasma with photometric detection // *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* — 2004. — Vol. 800, № 1–2. — P. 275–280.
10. Zhloba A.A., Subbotina T.F., Lupan D.S. et al. Arginine and lysine as products of basic carboxypeptidase activity associated with fibrinolysis // *Biochemistry (Moscow) Suppl. B: Biomed. Chem.* — 2012. — Vol. 6. — P. 261–265.
11. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl groups // *Arch. Biochem. Biophys.* — 1959. — Vol. 82, № 1. — P. 70–77.
12. Undas A., Williams E.B., Butenas S., Orfeo T., Mann K.G. Homocysteine inhibits inactivation of factor Va by activated protein C // *J. Biol. Chem.* — 2001. — Vol. 276, № 6. — P. 4389–4397.
13. Topal G., Brunet A., Millanvoye E. et al. Homocysteine induces oxidative stress by uncoupling of NO synthase activity through reduction of tetrahydrobiopterin // *Free Radic Biol. Med.* — 2004. — Vol. 36, № 12. — P. 1532–1541.
14. Harpel P.C., Chang V.T., Borth W. Homocysteine and other sulfhydryl compounds enhances the binding of lipoprotein (a) to fibrin: a potential biochemical link between thrombosis, atherogenesis, and sulfhydryl compound metabolism // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1992. — Vol. 89, № 21. — P. 10193–10197.
15. Undas A., Brozek J., Jankowski M., Siudak Z., Szczeklik A., Jakubowski H. Plasma homocysteine affects fibrin clot permeability and resistance to lysis in human subjects // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2006. — Vol. 26, № 6. — P. 1397–1404.