

ОБЗОРНЫЕ И ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ

РОЛЬ МИКРОВЕЗИКУЛ
В ТРАНСПОРТЕ ФАКТОРОВ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ

© Н. И. Башилов,¹ Н. Н. Цыбиков²

¹ 321-й военный клинический госпиталь Министерства обороны РФ,
Чита, Россия

E-mail: nikita.bashilov@gmail.com

² Читинская государственная медицинская академия МЗ РФ,
Чита, Россия

Микровезикулы представляют собой гетерогенную группу внеклеточных мембранных структур размерами от 0.1 до 1.0 мкм, образуемых различными типами клеток при активации или апоптозе и играющих ключевую роль в процессах межклеточного взаимодействия, передаче различных пластических материалов, биоинформационных стимулов. Важное значение придается участию эктосом в функционировании системы гемостаза путем относительного увеличения площади коагуляционных поверхностей, богатых отрицательно заряженными фосфолипидами, донации молекул тканевого фактора, других прокоагулянтных структур. В обзоре представлены современные представления об участии микровезикул в процессе переноса различных генераций тканевого фактора, путях его экспрессии и возможных эффекторов.

Ключевые слова: микровезикулы, тканевой фактор, факторы свертывания крови, гемостаз.

Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. Т. 104. № 2. С. 129—137. 2018

N. I. Bashilov,¹ N. N. Tsybikov.² THE ROLE OF MICROVESICLES IN TRANSPORT OF BLOOD COAGULATION FACTORS. ¹321 Military clinical hospital Russian Ministry of Defense, Chita, Russia, e-mail: nikita.bashilov@gmail.com; ²Chita State Medical Academy, Chita, Russia.

Microparticles represent a heterogeneous group of extracellular membrane structures with a size from 0.1 to 1.0 μm formed by various cells upon activation or apoptosis, and play a key role in the processes of intercellular interaction, the different biochemical stimuli. The importance devoted to participation of ekto in the functioning of the hemostatic system, by increasing the area of coagulation surfaces rich with negatively charged phospholipids, donation of molecules of tissue factor and other procoagulant molecules. The review presents modern views on the involvement of microvesicles in the migration of various generations of tissue factor, its expression and possible effectors.

Key words: microparticle, tissue factor, the blood coagulation factors, hemostasis.

RUSSIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY. V. 104. N 2. P. 129—137. 2018

Система гемостаза представляет собой сложно регулируемую защитную, интегральную систему организма, функционирование которой происходит на различных уровнях — от молекулярного, субклеточного, до организменного. Изучение механизмов взаимодействия компонентов данной системы позволяет определять новые направления в понимании деятельности, гомеостаза организма как биологического объекта и в методах объективизации состояния пациента, лечебного воздействия возникших нарушений динамической системы внутренней среды, в мерах противодействия их развитию.

Тканевой фактор (ТФ) является одним из ключевых белков инициации системы свертывания крови. В настоящее время представляются устаревшими данные П. Моравица (1905 г.) об экспрессии ТФ только теми типами клеток, которые непосредственно не контактируют с кровью, при повреждении сосудистого русла, что запускает внешний путь гемокоагуляции. Сегодня мы располагаем научными работами, доказывающими постоянное наличие в крови циркулирующих молекул ТФ [40].

Клетки-источники внутрисосудистого ТФ окончательно не определены, достоверно показана роль моноцитов в качестве генераторов ТФ. Моноциты могут синтезировать мРНК ТФ и синтезировать молекулу ТФ при активации различными биологическими агентами — интерлейкином-1, фактором некроза опухоли альфа, липополисахаридом эндотоксина. Эндотелиоциты, альвеолоциты II могут высвобождать ТФ только после активации, обсуждается способность тромбоцитов к экспрессии ТФ [2, 14]. Определяющийся в крови ТФ относится к трем различным пулам: связанный с лейкоцитами и тромбоцитами; переносимый различными микровезикулами (МВ) и в виде растворимого белка, лишённого трансмембранного домена, синтезируемого при помощи альтернативного сплайсинга м-РНК (форма, регулирующая ангиогенез и приобретающая коагуляционные свойства после активации через интегринные клеточные поверхности, в присутствии определенного набора фосфолипидов) [6, 40, 51]. Экспериментальные работы с использованием антител, блокирующих ТФ, и аннексин V, связывающий фосфатидилсерин поверхности внеклеточных везикул, продемонстрировали зависимость прокоагулянтной активности МВ от интенсивности экспрессии ТФ и наличия отрицательно заряженных фосфолипидов наружной поверхности мембраны. Причем из фракций так называемого неклеточного ТФ в образовании тромбина могут участвовать лишь молекулы, переносимые МВ. Стоит отметить, что не каждая молекула ТФ, экспрессирующаяся на МВ, обладает прокоагулянтной активностью, некоторые из них участвуют в качестве регуляторов в неопластическом процессе, ангиогенезе, воспалении и др. Данные молекулы ТФ, как правило, находятся в неактивной «зашифрованной» конформации и требуют «дешифровки» для приобретения функциональной активности. Подобная особенность постсинтетической модификации ТФ отчасти объясняет результаты исследований, показывающих отсутствие четкой корреляции между уровнем МВ и степенью гиперкоагуляции, а также укорочение протромбинового времени только на 2 % после введения МВ в образцы крови [1, 3, 46]. Вместе с тем математическое моделирование активации факторов свертывания крови показало прямую пропорциональную зависимость между амидолитической активностью связанных с МВ факторов контактного пути гемостаза и уровнем МВ. Феномен гиперкоагуляции плазмы при ее разбавлении трактуется усилением активации свертывания плазмы по контактному пути на циркулирующих МВ и уменьшением концентрации циркулирующих ингибиторов свертывания [4].

Безусловно, МВ остаются важным резервуаром внутрисосудистого ТФ. Они могут доставлять и передавать его клеткам-мишеням, таким как тромбоциты и нейтрофилы, тем самым усиливая распространение прокоагулянтной реакции [51]. ТФ в основном переносится микропузырьками более низкой плотности (1.03—1.08 г/мл) диаметром от 200 до 350 нм [18]. При миелобластных лейкозах отмечается увеличение средних размеров микровезикул, экспрессирующих ТФ

(МВ-ТФ), до 450 нм [24]. Исследование плазмы крови больных раком молочной железы показало, что 36 % микрочастиц, несущих ТФ, относятся к генерации экзосом (размеры менее 100 нм). При этом 74 % активности ТФ относятся к частицам диаметром менее 100 нм, около 8 % активности — везикулам диаметром более 650 нм, а МВ диапазона от 100 до 650 нм приписывается около 20 % прокоагулянтной активности [23]. При описании генераций микропузырьков стоит учитывать, что современные методы исследования биологии внеклеточных микрочастиц показывают перекрытие между размерами экзосом и МВ, т. е. дифференцировка видов микропузырьков должна осуществляться на основе выявления механизмов их биогенеза [39].

Несмотря на широкий спектр физиологических и патофизиологических функций различных генераций ТФ, основной считается его прокоагулянтная активность, которая зачастую определяет патогенез основных проявлений или осложнений болезненных процессов организма. Канцерогенез сопровождается 4—7-кратным увеличением (по некоторым данным 7—10-кратным) [23, 33] риска развития венозных тромбозомболических осложнений. При этом отмечено, что более 15 % летальных исходов онкологических больных обусловлены опухоль-ассицированными тромбозами (синдром Труссо), которые возникают на фоне повышения способности опухолевых клеток к высвобождению различных групп микрочастиц, экспрессирующих ТФ [24]. Причем различные гистологические типы опухолевой ткани характеризуются неодинаковой интенсивностью блеббинга и экспрессии ТФ. Более выраженную везикуляцию приписывают злокачественным клеткам эпителиального происхождения, в особенности, клеткам аденокарциномы поджелудочной железы [25, 26, 29]. Исследование крови больных раком легкого выявляет 41-кратное увеличение содержания в плазме ТФ по сравнению с кровью здоровых лиц [15]. У 70 % пациентов, страдающих злокачественными новообразованиями, выявляется состояние гиперкоагуляции, при этом у больных с метастатическими формами рака в крови отмечаются более высокие уровни МВ-ТФ как прокоагулянтных МВ-ТФ, так и несущих неактивные формы ТФ в качестве кофактора VIIa фактора свертывания или активатора X фактора [49]. Кроме того, применение химиотерапии у онкологических больных и связанное с этим усиление апоптоза злокачественных клеток приводят к увеличению интенсивности образования прокоагулянтных МВ, в том числе и МВ-ТФ [10]. Кроме того, МВ-ТФ опухолевого происхождения могут передаваться между различными популяциями раковых клеток и, следовательно, вносить свой вклад в распространение ТФ-связанного агрессивного фенотипа среди гетерогенных подмножеств клеток опухоли [28]. Вместе с тем ряд ученых, опираясь на результаты исследования с участием онкологических пациентов и разработанных экспериментальных моделей, не нашел корреляционной зависимости между уровнем циркулирующих МВ-ТФ и активацией коагуляции [11, 44].

На сегодняшний момент известно, что у лиц, страдающих воспалительными заболеваниями кишечника, риск венозных тромбозомболий возрастает в 4 раза по сравнению со здоровыми людьми, и важная роль в патогенезе данных осложнений отводится повышению интенсивности образования прокоагулянтных МВ (в том числе и МВ-ТФ) в ответ на активацию клеток провоспалительными цитокинами. При этом циркулирующие МВ различного происхождения обладают неодинаковой способностью экспрессировать ТФ. Согласно результатам фенотипирования различных МВ установлено, что 80 % МВ лейкоцитарного происхождения, 85 % моноцитарного и 9 % тромбоцитарного имеют на своей поверхности молекулы ТФ. Вследствие того, что 70—90 % циркулирующих в плазме МВ образованы тромбоцитами, больший вклад в абсолютное количество МВ-ТФ вносят кровяные пластинки. Наряду с этим отмечено, что МВ-ТВ моноцитарного происхождения обуславливают на 80 % больше активности ТФ, чем клетки их образующие [13]. Стоит также упомянуть об отсутствии в ряде случаев четкой корреляции между уровнем МВ-ТФ и степенью коагуляционной активности цир-

кулирующих МВ, что наиболее вероятно связано с нахождением на мембранах МВ физиологически «зашифрованных» молекул ТФ [42].

Кроме того, венозные тромбозы при гипертензивной болезни ассоциируются с повышением в плазме крови уровня МВ-ТФ на фоне усиления блеббинга эндотелиоцитами [55]. При гиперлипидемии в плазме крови регистрируется повышенный уровень МВ-ТВ моноцитарного происхождения. В частности, состояние гиперхолестеринемии увеличивает микровезикуляцию моноцитов/макрофагов с образованием МВ, богатых ТФ, и отрицательно заряженным фосфатидилсеринем [31]. Наряду с этим около 50 % МВ атеросклеротических бляшек являются ТФ-позитивными [48]. На сегодняшний момент определено, что тромбогенность бляшек в большей степени обусловлена ТФ их бесклеточного ядра, в составе которого выявляются МВ различного клеточного происхождения (гладких мышц, эндотелия, фибробластов, макрофагов) [50]. Описанные закономерности предопределяют нестабильность атеросклеротической бляшки и последующие сосудистые осложнения.

У больных с ожирением отмечают склонность к тромбозам, связанным с повышением уровня ТФ, переносимого микровезикулами. При этом описано, что через два года после бариатрического оперативного вмешательства содержание циркулирующих МВ-ТФ снижается в десятки раз [5].

Доказана стимулирующая роль липополисахарида на высвобождение моноцитами МВ-ТФ, а также зарегистрировано, что употребление марихуаны, алкоголя индивидуумами, имеющими тот или иной вид иммунодефицита (например, ВИЧ-инфекция), ведет к состоянию гиперкоагуляции, обусловленному повышением активности МВ-ТФ моноцитарного происхождения [53]. Инвазия золотистого стафилококка приводит к усилению отшнуровывания альвеолоцитами II типа МВ-ТФ и передаче их ТФ-негативным эндотелиоцитам, что в свою очередь инициирует и поддерживает прокоагулянтное состояние у пациентов с инфекцией и при развитии синдрома системной воспалительной реакции [14]. Кроме того, отмечено повышенное содержание в биологических средах МВ-ТФ при стенокардии, остром коронарном синдроме, гемобластазах, ДВС-синдроме, серповидно-клеточной анемии, эндотоксемии, сепсисе, преэклампсии, депрессивных расстройствах после операций с использованием АИК, при длительном воздействии загрязненного воздуха, табачного дыма, гипоксии [1, 2, 16, 20, 23, 31, 35, 45–47, 52]. Стоит отметить, что при различных формах тромбозов отмечается неоднородное повышение МВ-ТФ. Увеличение содержания МВ-ТФ моноцитарного происхождения выявляется как при первичном, так и рецидивном эпизодах тромбоза глубоких вен конечностей, а более высокий уровень МВ-ТФ тромбоцитарного и эндотелиального происхождения наблюдается именно при рецидивном характере тромбоза [54].

Процесс включения ТФ в мембрану МВ до конца не изучен. Как известно, ТФ является интегральным трансмембранным белком массой 47 кДа, состоящим из 263 остатков аминокислот (АК). Молекула ТФ имеет 3 домена: внеклеточный (219 АК), трансмембранный (23 АК) и короткий внутриклеточный (21 АК), участвующий в процессах сигнализации. ТФ относится к суперсемейству цитокинов класса II и функционирует в качестве рецептора с сигнальной трансдукцией, приводящей к индукции генов, участвующих в воспалении, апоптозе, эмбриональном развитии, миграции клеток, ангиогенезе, неопластическом процессе и в качестве кофактора для факторов VII / VIIa и пр. В эндотелиоцитах при стимуляции G-белок связанная протеаз-активированных рецепторов (PAR2) происходит протеинкиназа С-зависимое фосфолирование серина в 253 положении в цитоплазматическом домене молекулы ТФ, что может не только непосредственно влиять на высвобождение ТФ, но и инициировать функциональные изменения белков, необходимых для включения ТФ в мембрану МВ. Подобные изменения включают в себя взаимодействие с белками цитоскелета или активацию сигнальных механизмов [8]. В частности, конформированная четвертичная структура ТФ

с включением фосфатной группы в 253 положение приобретает сродство к белку цитоскелета филамину А, активируя тем самым внутриклеточный фермент каспазу, разрушающую связь между филамином А и актином, что опосредует выпячивание участка мембраны, несущего молекулы ТФ, и формирование эктосомы. Воспроизведенное в эксперименте блокирование синтеза филамина А приводит к значительному снижению включения антигена ТФ в МВ, сопоставимому с результатами удаления цитоплазматического домена ТФ. При этом частичное блокирование филамина А не приводит к изменению количества выпускаемых МВ, но инактивация более 90 % филамина А вызывает усиление блеббинга, обусловленного снижением устойчивости цитоплазматической мембраны и нарушением связи с цитоскелетом [9, 21]. С другой стороны, фосфорилирование серина в 253 положении, способствуя электронеутрализации данного участка первичной структуры молекулы, изменяет интенсивность взаимодействия белка с отрицательно заряженными участками бислоя мембраны [38]. Кроме того, активация PAR2 может через неидентифицированные пролин-направленные киназы (PDK) запустить фосфорилирование 258 остатка серина цитоплазматического домена ТФ, что приводит либо к активации внутриклеточной фосфатазы, либо к структурному дефосфорилированию 253 остатка АК и как следствие к угнетению высвобождения ТФ. С другой стороны, дефосфорилирование 258 остатка серина может активизироваться путем фосфорилирования 253 остатка АК за счет структурных перестроек цитоплазматического домена молекулы ТФ. Таким образом, активация ТФ запускает механизмы обратной связи в ауторегуляции его экспрессии. Вместе с тем не отмечается облигатное увеличение синтеза ТФ в ответ на повышение интенсивности блеббинга, что объясняется существованием альтернативных путей везикуляции (PARI, ROCK-II и др.) [19]. Примечательно, что PAR экспрессируются во многих тканях, принимая участие в ряде физиологических и патологических процессов. Однако их экспрессия на мембране клеток злокачественных опухолей различных типов рака является избыточной и коррелирует с агрессивным поведением опухолевых клеток, реализуемым в том числе через эффекты ТФ. PARI, PAR3 и PAR4 могут активироваться тромбином, в то время как PAR2 — факторами свертывания (VIIa, Xa), протеазами (трипсином, триптазой), но не тромбином [32]. Кроме того, воздействие белков системы компонента на клетки-источники может стимулировать отшнуровывание МВ-ТФ [27]. Исследования процесса микровезикуляции моноцитов показывают образование МВ-ТФ в отличие, например, от МВ, экспрессирующих белок CD45, из особых богатых холестерином микродоменов клеточных мембран (липидных рафтов), что объясняет влияние гиперхолестеринемии на процесс блеббинга и гиперкоагуляции [12]. Стоит отметить, что одной из особенностей функционирования многих клеток (особенно опухолевых) является способность при их активации выпускать МФ-ТФ в виде «всплесков». Такие всплески могут колебаться по продолжительности и количеству паттернов в единицу времени [19].

Процессы образования МВ-ТФ и их взаимодействия с клетками-мишенями, благодаря наличию фосфатидилсерина, участию липидных рафтов, слиянию с цитолеммой и пр., схожи с функционированием мембранных вирусов, в том числе ВИЧ-1 и вирусом гриппа [12]. МВ-ТФ могут захватываться тромбоцитами, которые используют их фосфолипидные домены и ТФ для повышения своих агрегационных и коагуляционных свойств, а также для пространственного распространения тромба. Исследования последних лет говорят о гетерогенности МВ-ТФ, несущих различные мембранные рецепторные структуры, для взаимодействия с поверхностными молекулами мембран тромбоцитов и запуска неоднородных механизмов эффекторного влияния [22]. Слияние МВ-ТФ и тромбоцитов происходит вне рецепторных структур мембраны клеток, непосредственно участвующих в реализации гемостатической функции (например, GPIIb-IIIa). Оно может осуществляться посредством рецепторов CD36 к переносчику серотонина на поверхности и как следствие приводит к активации фосфоинозид-3-кина-

зы, сборке цитоскелета [37]. Процесс слияния циркулирующих в плазме МФ-ТФ с активированными тромбоцитами может реализоваться через взаимодействие молекул Р-селектина-лиганд-гликопротеина-1 (PSGL-1) на поверхности микропузырьков и Р-селектина на мембране тромбоцитов [12]. Ранее было продемонстрировано, что взаимодействие моноцитарных и полиморфноядерно-лейкоцитарных МВ-ТФ с тромбоцитами осуществляется через CD15 (лейкоцит мембраносвязывающий углевод, сиалил Льюиса X или SSEA-1) поверхности эктосом и Р-селектина мембран кровяных пластинок [43]. ТФ, переносимый относительно более мелкими МВ, может передаваться тромбоцитам путем эндоцитоза микрочастиц, храниться в системе открытых ионных каналов или даже в альфа-гранулах, а при активации кровяных пластинок высвобождаться и участвовать в коагуляционном каскаде [17]. В эксперименте было продемонстрировано, что включение ТФ, принесенного в мембрану тромбоцитов после слияния с МВ-ТФ, усиливает их адгезивные, агрегационные свойства, ускоряет процесс образования тромбина и укорачивает время формирования тромба [36]. При этом МВ могут взаимодействовать как с покоящимися тромбоцитами, вызывая их активацию, так и с активированными клетками, усиливая тем самым коагуляционные процессы и в конечном итоге приводя к увеличению объема образующегося тромба. Примечательно, что присутствие молекул серотонина усиливает захват тромбоцитами МВ-ТФ и экспрессию ТФ на поверхности кровяных пластинок. Данный факт объясняет нарушения в системе коагуляции у лиц, страдающих депрессией, в основе патогенеза которой лежит дисбаланс серотонинергических процессов [35]. Была продемонстрирована способность эндотелиоцитов поглощать МВ-ТФ и включать молекулы переданного ТФ в свою цитоплазматическую мембрану. При этом повышаются прокоагулянтные свойства эндотелиоцитов. Напротив, не происходит усиления синтеза м-РНК и образования *de novo* в эндотелиоцитах внутриклеточного ТФ, а блокирование эндоцитоза приводит к уменьшению активности ТФ [8].

В настоящий момент доказано, что активация системы коагуляции требует наличия плазматических факторов свертывания крови, ионов кальция и цитоплазматической мембраны с отрицательно заряженными фосфолипидами на поверхности. Как было указано выше, наличие таких фосфолипидов является одной из характеристик мембран МВ. Из-за электростатического взаимодействия между положительно заряженными доменами γ -карбоксиглутаминовой кислоты в белковой структуре факторов свертывания Va, VIIIa, IXa и отрицательно заряженными молекулами фосфатидилсерина на мембране МВ в присутствии ионов кальция происходит увеличение скорости образования теназного и протромбиназного комплексов. Тромбоцитарные МВ имеют больше сайтов связывания факторов Va, VIIIa, IXa на единицу площади поверхности мембраны, чем активированные тромбоциты. Таким образом, образование тромбина происходит более эффективно на мембранах МВ, чем на мембранах тромбоцитов, при пересчете на единицу площади поверхности. [15, 41]

Важным эффектом функционирования ТФ является его участие в системе защиты организма от эндо- и экзогенных патогенных влияний. МВ, полученные из моноцитов, экспрессируют и доставляют внутрисосудистый ТФ к местам воздействия патогена, который инициирует *immunothrombosis* внутри кровеносного сосуда и способствует локализации инфекционного очага, предотвращая генерализацию процесса. МВ-ТФ опухолевого происхождения могут передаваться между различными популяциями раковых клеток и, следовательно, вносить свой вклад в распространение ТФ-связанного агрессивного фенотипа среди гетерогенных подмножеств клеток опухоли [28].

Таким образом, МВ являются важным компонентом процесса свертывания крови и функционирования его именно как пространственной системы. Использование МВ-ТФ в качестве перспективных мишеней патогенетической терапии и диагностических маркеров тромбозомболий различного генеза открывает широ-

кий горизонт лечебного воздействия и ранней диагностики жизнеугрожающих состояний при многих патологических процессах, в особенности при онкологических заболеваниях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] Гомзикова М. О., Гайфуллина Р. Ф., Мустафин И. Г., Чернов В. М., Мифтахова З. Р., Галявич А. С., Ризванов А. А. Мембранные микровезикулы: биологические свойства и участие в патогенезе заболеваний. Гены и клетки. 8(1) : 6—11. 2013.
- [2] Зубаирова Л. Д., Мустафин И. Г., Набиуллина Р. М. Патогенетические подходы к исследованию маркеров венозного тромбоза. Казанский мед. журн. 94(5) : 685—691. 2013.
- [3] Сухарева Е. Г., Левин Г. Я. Влияние микровезикул консервированных эритроцитов на агрегацию тромбоцитов и фибринообразование в искусственном сдвиговом потоке. Тромбоз, гемостаз и реология. 60(4) : 55—58. 2014.
- [4] Челушкин М. А., Пантелеев М. А., Свешиникова А. Н. Активация контактного пути свертывания крови на циркулирующих микровезикулах может объяснить гиперкоагуляцию при разбавлении плазмы. Биологические мембраны. 34(2) : 126—141. 2017.
- [5] Ay L., Thaler J., Brix J., Scherthaner G., Ay C., Pabinger I., Scherthaner G. Decrease in microvesicle-associated tissue factor activity in morbidly obese patients after bariatric surgery. Internat. J. Obesity. 4(5) : 768—772. 2016.
- [6] Cimmino G., Golino P., Badimon J. Pathophysiological role of blood-borne tissue factor: should the old paradigm be revisited? Internal Emergency Med. 6 : 29—34. doi: 10.1007/s11739-010-0423-4. 2011.
- [7] Collier M., Ettelaie C. Regulation of the incorporation of tissue factor into microparticles by serine phosphorylation of the cytoplasmic domain of tissue factor. J. Biol. Chem. 286(14) : 11 977—11 984. 2011.
- [8] Collier M., Mah P., Xiao Y., Maraveyas A. Microparticle-associated tissue factor is recycled by endothelial cells resulting in enhanced surface tissue factor activity. Thromb. Haemost. 110(5) : 966—976. 2013.
- [9] Collier M., Maraveyas A., Ettelaie C. Filamin-A is required for the incorporation of tissue factor into cell-derived microvesicles. Thromb. Haemost. 111(4) : 647—655. 2014.
- [10] Date K., Hall J., Greenman J., Maraveyas A., Madden L. Tumour and microparticle tissue factor expression and cancer thrombosis. Thromb. Res. 2 : 109—115. 2013.
- [11] Davila M., Robles-Carrillo L., Unruh D., Huo Q., Gardiner C., Sargent I., Adam M., Woodhams B., Francis J., Bogdanov V., Amirkhosravi A. Microparticle association and heterogeneity of tumor-derived tissue factor in plasma: is it important for coagulation activation? Thromb. Haemost. 12(2) : 186—196. 2014.
- [12] Del Conde I., Shrimpton C., Thiagarajan P., López J. Tissue-factor-bearing microvesicles arise from lipid rafts and fuse with activated platelets to initiate coagulation. Blood. 106(5) : 1604—1611. 2005.
- [13] Del Conde I., Bharwani L., Dietzen J., Pendurthi U., Thiagarajan P., López J. Microvesicle-associated tissue factor and Trousseau's syndrome. Thromb. Haemost. 5(1) : 70—74. 2007.
- [14] DeWalt R., Petkovich., Zahrt A., Bruns H., McDowell S. Host cell invasion by *Staphylococcus aureus* stimulates the shedding of microvesicles. Biochem. Biophys. Res. Commun. 432(4) : 695—700. 2013.
- [15] Diamant M., Tushuizen M., Sturk A., Nieuwland R. Cellular microparticles: new players in the field of vascular disease? Clin. Invest. 6 : 392—401. 2004.
- [16] Emmerechts J., Jacobs L., Van Kerckhoven S., Loyen S., Loyen S., Mathieu C., Fierens F., Nemery B., Nawrot T., Hoylaerts M. Air pollution-associated procoagulant changes: the role of circulating microvesicles. Thromb. Haemost. 10(1) : 96—106. 2012.
- [17] Escolar G., Lopez-Vilchez I., Diaz-Ricart M., White J., Galan A. Internalization of tissue factor by platelets. Thromb. Res. 122(1) : 37—41. 2008.
- [18] Ettelaie C., Collier M., Maraveyas A., Ettelaie R. Characterization of physical properties of tissue factor-containing microvesicles and a comparison of ultracentrifuge-based recovery procedures. Extracell. Vesicl. 13 : 1—14. doi: 10.3402/jev.v3.23592. 2014.
- [19] Ettelaie C., Collier M., Featherby S., Benelhaj N., Naima E., Greenman J., Maraveyas A. Analysis of the potential of cancer cell lines to release tissue factor-containing mic-

- rovesicles: correlation with tissue factor and PAR2 expression. *Thrombosis*. 14 (2) : 45—53. 2016.
- [20] Gardiner C., Tannetta D., Simms C., Harrison P., Redman C., Sargent I. Syncytiotrophoblast microvesicles released from pre-eclampsia placentae exhibit increased tissue factor activity. *PLoS One*. 6(10) : 1—7. doi: 10.1371. 2011.
- [21] Gardiner C., Harrison P., Belting M., Böing A., Campello E., Carter B., Collier M., Boing A., Campello E., Carter B., Collier M., Coumans F., Ettelaie C., Es N., Hochberg F., Mackman N., Rennert R., Thaler J., Rak J., Nieuwland R. Extracellular vesicles, tissue factor, cancer and thrombosis — discussion themes of the ISEV 2014 Educational Day. *J. Extracell. Vesicl.* 4 : 1—7. doi:10.3402/jev.v4.26901. 2015.
- [22] Geddings J., Hisada Y., Boulaftali Y., Getz T., Whelihan M., Fuentes R., Dee R., Cooley B., Key N., Wolberg A., Bergmeier W., Mackman N. Tissue factor-positive tumor microvesicles activate platelets and enhance thrombosis in mice. *Thromb. Haemost.* 14(1): 153—166. 2016.
- [23] Gheldof D., Hardij J., Cecchet F., Chatelain B., Dogne J., Mullier F. Thrombin generation assay and transmission electron microscopy: a useful combination to study tissue factor-bearing microvesicles. *Extracell. Vesicl.* 2 : 1—11. doi: 10.3402/jev.v2i0.19728. 2013.
- [24] Gheldof D., Mullier F., Bailly N., Devalet B., Microparticle bearing tissue factor: a link between promyelocytic cells and hypercoagulable state. *Thromb. Res.* 133 : 433—439. 2014.
- [25] Hisada Y., Geddings J., Ay C., Mackman N. Venous thrombosis and cancer: from mouse models to clinical trials. *Thromb. Haemost.* 13 (8) : 1372—1382. 2015.
- [26] Hisada Y., Geddings J., Boulaftali Y., Getz T., Whelihan M., Fuentes R., Dee R., Cooley B., Key N., Wolberg A., Bergmeier W., Mackman N. Tissue factor positive microvesicles activate platelets in vitro and in vivo and enhance thrombosis in mice. *Thromb. Res.* 140 (1): 169—170. 2016.
- [27] Karpman D., Stahl A., Arvidsson I., Johansson K., Loos S., Tati R., Békássy Z., Kristofersson A., Mossberg M., Kahn R. Complement Interactions with blood cells, endothelial cells and microvesicles in thrombotic and inflammatory conditions. *Adv. Exp. Med. Biol.* 865 : 19—42. 2015.
- [28] Kimball A., Obi A., Diaz J., Henke P. The emerging role of NeTs in venous Thrombosis and immunothrombosis. *Front. Immunol.* 236 (7) : 1—8. doi: 10.3389/fimmu.2016.00236. 2016.
- [29] Koizume S., Ito S., Yoshioka Y., Kanayama T., Nakamura Y., Yoshihara M., Yamada R., Ochiya T., Ruf W., Miyagi E., Hirahara F., Miyagi Y. High-level secretion of tissue factor-rich extracellular vesicles from ovarian cancer cells mediated by filamin-A and protease-activated receptors. *Thromb. Haemost.* 115(2) : 299—310. 2016.
- [30] Lee R., Barcel D., Williams J., Wang J., Boles J., Manly D., Key N., Mackman N. Pre-analytical and analytical variables affecting the measurement of plasma-derived microparticle tissue factor activity. *Thromb. Res.* 130(1) : 80—85. 2012.
- [31] Li M., Yu D., Williams K., Liu M. Tobacco smoke induces the generation of procoagulant microvesicles from human monocytes/macrophages. *Arterioscl., Thromb, Vascular Biol.* 30(9): 1818—1824. 2010.
- [32] Lima L., Leal A., Vargas G., Porto-Carreira I., Monteiro R. Intercellular transfer of tissue factor via the uptake of tumor-derived microvesicles. *Thromb. Res.* 132 (4) : 450—456. 2013.
- [33] Lima L., Monteiro R. Activation of blood coagulation in cancer: implications for tumour progression. *Bioscience Reports.* 33(5) : 701—710. 2013.
- [34] Liu M., Reilly M., Casasanto P., McKenzie S. Cholesterol enrichment of human monocyte/macrophages induces surface exposure of phosphatidylserine and the release of biologically-active tissue factor-positive microvesicles. *Arterioscl., Thromb, Vascular Biol.* 27(2) : 430—435. 2007.
- [35] Lopez-Vilchez I., Diaz-Ricart M., White J., Escolar G., Galan A. Serotonin enhances platelet procoagulant properties and their activation induced during platelet tissue factor uptake. *Cardiovasc. Res.* 84(2) : 309—316. 2009.
- [36] Lopez-Vilchez I., Galan A., Hernandez M., Caballo C., Caballo C., Roque M., Diaz-Ricart M., White J., Escolar G. Platelet-associated tissue factor enhances platelet reactivity and thrombin generation in experimental studies in vitro. *Thromb. Res.* 130(6) : 294—300. 2012.
- [37] Lopez-Vilchez I., Diaz-Ricart M., Galan A., Roque M., Caballo C., Molina P., White J., Escolar G. Internalization of tissue factor-rich microvesicles by platelets occurs independently of GPIIb-IIIa, and involves CD36 receptor, serotonin transporter and cytoskeletal assembly. *J. Cell. Biochem.* 117(2) : 448—457. 2016.

[38] Mehmet Sen, Herzik M., Jr John W., Craft Jr., Agrawal S., Ruf W., Legge G. Spectroscopic characterization of successive phosphorylation of the tissue factor cytoplasmic region. *Open Spectroscopy J.* 3(1) : 58—64. 2009.

[39] Nguyen D., Ly T., Wesseling M., Hittinger M., Torge A., Devitt A., Perrie Y., Bernhardt I. Characterization of microvesicles released from human red blood cells. *Cell. Physiol. Biochem.* 38(3) : 1085—1099. 2016.

[40] Nigel S. Key, Jian-Guo G, Ronald R. Bach Tissue Factor; from Morawitz to Microparticles. *Transactions Am. Clin. Climatol. Association.* 118 : 165—173. 2007.

[41] Owens P., Mackman N. Microparticles in hemostasis and thrombosis. *Circul. Res.* 108 (10) : 1284—1297. 2011.

[42] Palkovits J., Novacek G., Kollars M., Hron G., Hron G., Osterode W., Quehenberger P., Kyrle P., Vogelsang H., Reinisch W., Papay P. Tissue factor exposing microparticles in inflammatory bowel disease. *J. Crohn's Colitis.* 7(3) : 222—229. 2013.

[43] Rauch U., Bonderman D., Bohrmann B., Badimon J., Hember J., Riederer M., Nemerson Y. Transfer of tissue factor from leukocytes to platelets is mediated by CD15 and tissue factor. *Blood.* 96(1) : 170—175. 2000.

[44] Rautou P., Mackman N. Microvesicles as risk markers for venous thrombosis. *Exp. Rev. Hematol.* 6(1) : 91—101. 2013

[45] Soejima H., Ogawa H., Yasue H., Nishiyama K., Kaikita K., Misumi K., Takazoe K., Kugiyama K., Tsuji I., Kumeda K., Nakamura S. Plasma tissue factor pathway inhibitor and tissue factor antigen levels after administration of heparin in patients with angina pectoris. *Thromb. Res.* 93 (1) : 17—25. 1999.

[46] Sturk-Maquelin K., Nieuwland R., Romijn F., Eijlsman L., Hack C., Sturk A. Pro- and non-coagulant forms of non-cell-bound tissue factor in vivo. *Thromb. Hemost.* 19(9) : 1920—1926. 2003.

[47] Svensson K., Kucharzewska P., Christianson H. Skold S., Lofstedt T., Johansson M., Mörgelin M., Bengzon J., Ruf W., Belting M. Hypoxia triggers a proangiogenic pathway involving cancer cell microvesicles and PAR-2-mediated heparin-binding EGF signaling in endothelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 108(32) : 13 147—13 152. 2011.

[48] Tatsumi K., Mackman N. Tissue factor and atherothrombosis. *Atheroscl. Thromb.* 22(6) : 543—549. 2015.

[49] Tesselaar M., Romijn F., Van Der Linden I., Prins F., Bertina R., Osanto S. Microparticle-associated tissue factor activity: a link between cancer and thrombosis? *Thromb. Haemost.* 5(3) : 520—527. 2007.

[50] Tedgui A., Mallat Z. Smooth muscle cells: another source of tissue factor-containing microparticles in atherothrombosis? *Circul. Res.* 87(2) : 81—82. 2000.

[51] Trepesch C., Nitzsche R., Glass A., Kreikemeyer B., Schubert J., Oehmcke-Hecht S. High intravascular tissue factor-but not extracellular microvesicles-in septic patients is associated with a high SAPS II score. *Intensive Care.* 4(34) : 1—9. doi: 10.1186/s40560-016-0160-5. 2016.

[52] Wada H., Nakase T., Nakaya R., Minamikawa K. Elevated plasma tissue factor antigen level in patients with disseminated intravascular coagulation. *Hematology.* 51(3) : 232—236. 1994.

[53] Williams J., Klein T., Goldberger B., Sleasman J., Mackman N., Goodenow M. $\Delta(9)$ -Tetrahydrocannabinol (THC) enhances lipopolysaccharide-stimulated tissue factor in human monocytes and monocyte-derived microvesicles. *J. Inflammat.* 12 (39) : 1—6. doi: 10.1186/s12950-015-0084-1. 2015.

[54] Ye R., Ye C., Huang Y., Liu L., Wang S. Circulating tissue factor positive microparticles in patients with acute recurrent deep venous thrombosis. *Thromb. Res.* 10(2) 6 253—258. 2012.

[55] Zwicker J., Liebman H., Neuberg D., Lacroix R., Bauer K., Furie B., Furie B. Tumor-derived tissue factor-bearing microparticles are associated with venous thromboembolic events in malignancy. *Clin. Cancer Res.* 15(22) : 6830—6840. 2009.

Поступила 18 V 2017
После доработки 13 XI 2017