

Оригинальные статьи

МАТВИЕНКО О.Ю., НАМЕСТНИКОВ Ю.А.,
ГОЛОВИНА О. Г., САЛТЫКОВА Н. Б.,
ПАПАЯН Л. П., ПЕТРИЩЕВ Н. Н.

Участие микрочастиц плазмы крови в обеспечении гемостатического потенциала у пациентов с облитерирующим атеросклерозом сосудов нижних конечностей

*Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии,
Санкт-Петербург
e-mail: matolesya@mail.ru*

Реферат

Обследованы 29 пациентов с облитерирующим атеросклерозом сосудов нижних конечностей. Целью работы являлось изучение роли микрочастиц плазмы крови в развитии гиперкоагуляционных изменений. Для оценки гемостатического потенциала плазмы крови использовали общепринятые методы исследования системы гемостаза, а также модификации теста генерации тромбина, позволяющие оценивать роль микрочастиц в развитии коагуляционного процесса. Показано, что у данных пациентов стандартные коагуляционные тесты не являются достаточно информативными для выявления гиперкоагуляционных изменений. У пациентов с облитерирующим атеросклерозом сосудов нижних конечностей выявлено повышение уровня генерации тромбина, обусловленное влиянием тканевого фактора, локализованного на микрочастицах. Установлено также, что микрочастицы этих больных обладают и антикоагулянтным потенциалом, что способствует ограничению генерации тромбина и поддержанию гемостатического баланса.

Ключевые слова: атеросклероз, гиперкоагуляция, микрочастицы, генерация тромбина.

Matvienko O. Yu., Namestnikov Yu. A., Golovina O. G.,
Saltykova N. B., Papayan L. P., Petrishchev N. N.

Hemostatic potential providing with microparticles in patients with atherosclerosis of the vessels of the lower extremities

*Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, Saint-Petersburg
e-mail: matolesya@mail.ru*

Abstract

This study included 29 patients with atherosclerosis of the vessels of the lower extremities. In the current research the hypercoagulation syndrome that occurs in such patients was investigated. The purpose of the study was to estimate the influence of prothrombogenic potential caused by microparticles. The common blood coagulation tests and thrombin generation caused by microparticles had been analyzed. It has found that the common used blood tests are not always sufficient for detection of hypercoagulation in patients with atherosclerosis of the vessels of the lower extremities. Microparticles enhance thrombin generation and increase prothrombogenic potential of these patients due to tissue factor expressed on their surfaces. Microparticles of patients with atherosclerosis of the vessels of the lower extremities have anticoagulant activity which may limit thrombin generation.

Keywords: atherosclerosis, hypercoagulation, microparticles, thrombin generation.

Введение

Распространение атеросклероза во всем мире носит эпидемический характер, в США и Европе (включая Россию) за XX в. от последствий атеросклеротических поражений погибли более 360 млн человек. На фоне атеросклеротического изменения сосудов развивается ишемическая болезнь сердца, инсульт, а также ишемическое поражение конечностей [1, 12].

Атеросклероз представляет собой хроническое воспалительное заболевание сосудистой стенки, в основе которого лежит взаимодействие между липопротеидами, макрофагами, лимфоцитами и клетками сосудистой стенки. В генезе атеросклероза также большую роль играет активация тромбоцитов и изменение реологических свойств крови [11].

Это подразумевает наличие гиперкоагуляционного статуса у пациентов, который не всегда удается выявить обычными методами исследования системы гемостаза. Известно, что активация и повреждение клеток сопровождаются повышенным образованием микрочастиц (МЧ) плазмы крови [12].

МЧ представляют собой фосфолипидные везикулы размером от 0,1 до 1 микрометра, лишенные ядра и способные легко переноситься током крови. Способностью к микровезикуляции обладают эндотелиоциты и различные клетки крови (тромбоциты, моноциты, лимфоциты, нейтрофилы, эритроциты), которые отделяют МЧ под действием разнообразных стимулов [4]. Процесс микровезикуляции постоянно наблюдается в здоровом организме, однако количество МЧ может возрастать на фоне различных заболеваний.

Значительное увеличение образования МЧ происходит под воздействием токсико-инфекционных агентов, при развитии воспалительных реакций, изменении напряжения сдвига и рН крови. МЧ, образованные из различных клеток в результате их активации или в процессе апоптоза, имеют одну общую черту — их наружная мембрана обогащена отрицательно заряженными фосфолипидами.

Антигенный состав МЧ обусловлен типом клеток, которые их образуют. МЧ могут нести на своей поверхности клеточно-специфичные мембранные антигены, адгезивные белки и различные прокоагулянтные молекулы, в том числе и тканевой фактор (ТФ), если они происходят из клеток, экспрессирующих подобные вещества [3].

Эти особенности МЧ и обуславливают их потенциальную роль не только в различных физиологических процессах, но и в развитии тромбоза, воспаления и дисфункции эндотелия [5, 16]. Благодаря тому, что МЧ несут на своей поверхности отрицательно заряженные фосфолипиды, которые служат местом сборки прокоагулянтных комплексов, а также ТФ, который, как известно, является основным триггером коагуляционного каскада, МЧ могут участвовать как в инициации, так и в распространении коагуляционного процесса.

Так, рядом исследователей была обнаружена аккумуляция МЧ моноцитарного происхождения в экстрактах атероматозных бляшек, где с ними связано 97 % активности ТФ. Также там присутствуют МЧ, образованные эритроцитами и гладкомышечными клетками, из которых последние являются наиболее тромбогенными. Разрыв бляшки индуцирует высвобождение в циркуляцию МЧ, экспонирующих ТФ и фосфатидилсерин, что может служить пусковым механизмом для развития тромбоза [6, 7].

В основной массе научных исследований уделяется внимание антигенной структуре и количеству МЧ у пациентов с атеросклеротическими поражениями, однако, на наш взгляд, неменьший интерес представляет оценка влияния МЧ на систему гемостаза у подобных пациентов. Такую возможность дает исследование роли микрочастиц в обеспечении гемостатического потенциала с помощью глобального теста оценки состояния системы гемостаза — теста

генерации тромбина (ТГТ). Данный тест позволяет осуществлять динамическое наблюдение за образованием тромбина, ключевого фермента гемостаза, и тем самым проводить интегральную оценку гемостатического потенциала [10].

Использование различных модификаций теста дает возможность судить о вкладе ТФ и/или прокоагулянтных фосфолипидов микрочастиц в генерацию тромбина и благодаря этому оценивать роль микрочастиц в обеспечении гемостатического потенциала. Учитывая возможную роль МЧ в процессах атерогенеза и тромбоза, определение гемостатического потенциала с учетом вклада МЧ может быть более информативным для оценки гиперкоагуляционного статуса, чем стандартное коагулологическое обследование, у пациентов с атеросклерозом.

Все вышеперечисленное обуславливает необходимость новых исследований, включающих оценку коагуляционного потенциала МЧ, которые предоставят дополнительные сведения о развитии гиперкоагуляционного синдрома на фоне атеросклероза.

Материал и методы исследования

В рамках данной работы было проведено обследование 29 пациентов (10 женщин и 19 мужчин) в возрасте от 44 до 77 лет с облитерирующим поражением артерий нижних конечностей (ОАСНК) и явлениями хронической ишемии нижних конечностей (по классификации Фонтейн–Покровского), обратившихся для обследования и лечения в РосНИИГТ.

Все пациенты, вошедшие в группу, были с установленным клиническим диагнозом, который был подтвержден ультразвуковым дуплексным сканированием и/или методом ангиографии. Все обследованные находились на антиагрегантной терапии. Контрольная группа состояла из 54 здоровых лиц сопоставимых по полу и возрасту.

Кровь брали с 3,2 %-м раствором цитрата натрия в соотношении 9:1. Образцы бедной тромбоцитами плазмы получали путем двойного центрифугирования (первый этап — 10 мин при 120 g, второй — 30 мин при 2500 g; 22 °C). Коагуляционную активность, ассоциированную с МЧ, определяли в плазме, полностью свободной от тромбоцитов, которую получали путем дополнительного центрифугирования образцов бедной тромбоцитами плазмы (5 мин при 14 000 g; 22 °C). Скрининговые коагуляционные тесты (индекс АПТВ, протромбиновый тест по Квику, тромбиновое время, концентрацию фибриногена по Клауссу) проводили рутинными методами, принятыми в лабораторной практике.

Исследование активности фактора VIII и анти-тромбина (АТ) проводили на автоматическом коагулометре Helena (*Helena*, UK), ристомицинокофакторной активности фактора Виллебранда — на анализаторе агрегации тромбоцитов AP-2110 (*Solar*, Беларусь). Определение Хагеманзависимого лизиса эуглобулиновой фракции плазмы (ХПз-ЭЛ) производили методом Г. Ф. Еремина и А. П. Архипова [2], концентрации D-димера — полуколичественным методом латексной агглютинации (*Diagnostica Stago*, *Roche*, France).

Коагуляционную активность, ассоциированную с МР, исследовали с помощью теста генерации тромбина (Calibrated Automated Thrombogram) [10]. В качестве триггеров в реакциях генерации тромбина использовали следующие реактивы: «PRP-Reagent», содержащий рекомбинантный ТФ (конечная концентрация — 1 пМ), и «MP-Reagent», включающий фосфолипиды (конечная концентрация — 4 мкМ).

В связи с тем, что добавление экзогенных фосфолипидов приводит к развитию контактной активации, постановка ТГТ с использованием реактива «MP-Reagent» выполнялась с добавлением ингибитора фактора XII — СТИ (corn trypsin inhibitor, конечная концентрация СТИ — 40 мкг/мл).

Использование реактивов «MP-Reagent» и «PRP-Reagent» позволяет судить о вкладе в генерацию тромбина ТФ, экспрессированного на МЧ, и отрицательно заряженных фосфолипидов МЧ соответственно.

Для активации коагуляции применяли реактив «FluCa-kit», состоящий из субстрата тромбина, меченного флюоресцентной меткой, и Ca^{2+} . Измерения проводили относительно калибровочного раствора, который включал калибратор и образец исследуемой плазмы.

Все образцы плазмы и соответствующих калибровочных растворов измеряли на планшетном флуориметре Fluoroskan (ThermoFisherScientific, Finland) при 37 °C и длинах волн возбуждения и эмиссии 390 и 460 нм соответственно.

С помощью прилагаемого программного обеспечения оценивали следующие параметры тромбограмм: LT (мин) — время инициации свертывания; ЕТР (нМ•мин) — эндогенный потенциал тромбина; Peak (нМ) — максимальную концентрацию тромбина; ТТР

(мин) — время достижения максимальной концентрации тромбина. Скорость генерации тромбина (V , нМ/мин) рассчитывали по формуле Peak/ТТР-LT .

Для описания полученных данных определяли значение медианы (Me) и 50 %-й доверительный интервал (ДИ). Сравнение результатов, полученных в группах пациентов и доноров, проводили с использованием критерия Манна–Уитни. Использовали пакет «STATISTICA 6.0». Различия считали достоверными при значении $p < 0,05$.

Результаты исследования

Исследование скрининговых показателей системы гемостаза выявило статистически значимое увеличение лишь концентрации фибриногена в группе пациентов по сравнению с донорами (табл. 1). Такие показатели, как индекс АПТВ, протромбиновый тест по Квику, тромбиновое время, в целом по группе оставались в пределах нормальных колебаний.

Определение других показателей гемостаза, отличающихся большей специфичностью к выявлению гиперкоагуляционных изменений, позволили установить значительный рост активности фактора VIII и фактора Виллебранда в группе пациентов с ОАСНК в сравнении со здоровыми лицами (табл. 1).

Активность антитромбина и время XIIa-ЗЭЛ не отличались от нормальных значений (табл. 1). Индивидуальный анализ показателей коагулограмм обнаружил, что значения, превышающие референтные, встречались далеко не у всех пациентов.

Так, уровень фибриногена был повышен у 55 %, активность фактора VIII и фактора Виллебранда — у 34 и 52 % больных соответственно. У 17 % пациентов отмечалось удлинение времени XIIa-ЗЭЛ.

Показатели отдельных тестов коагулограмм у пациентов с ОАСНК
(Me, 50 %-й ДИ: 25-й и 75-й процентиля)

Таблица 1

Показатель	Пациенты	Здоровые лица
Концентрация ФГ, г/л	4,32** (3,77–4,69)	2,73 (2,54–2,93)
Активность фактора VIII, %	147,00* (124,00–187,00)	100,50 (82,75–121,75)
Активность фактора Виллебранда, %	160,00*** (112,00–215,00)	97,00 (84,75–110,00)
Активность АТ, %	98,00 (85,40–105,00)	94,00 (81,50–105,50)
Время XIIa-ЗЭЛ, мин	7,17 (6,17–8,33)	5,59 (4,5–7,25)

* — $p < 0,0001$; ** — $p < 0,00001$; *** — $p < 0,000001$.

Показатели тромбограмм пациентов с ОАСНК и здоровых лиц,
полученные при использовании реактива «MP-Reagent»+СТИ
(Me, 50 %-й ДИ: 25-й и 75-й процентиля)

Таблица 2

Показатель	Пациенты	Здоровые лица
ЕТР, нМ•мин	807,50* (712,50–1282,00)	566,50 (462,25–708,00)
Peak, нМ	92,09** (60,04–129,62)	46,25 (32,91–67,21)
V, нМ/мин	20,98* (6,76–33,18)	7,34 (5,17–12,58)
LT, Мин	27,03 (22,92–45,00)	27,33 (21,18–37,17)
ТТР, мин	37,00 (27,25–53,09)	32,59 (24,93–44,64)

* — $p < 0,01$; ** — $p < 0,001$.

Показатели тромбограмм пациентов с ОАСНК и здоровых лиц,
полученные при использовании реактива «PRP-Reagent»
(Me, 50 %-й ДИ: 25-й и 75-й процентиля)

Таблица 3

Показатель	Пациенты (N=29)	Здоровые лица (N=30)
ETP, нМ·мин	508,00 (372,50–623,50)	471,84 (384,25–564,00)
Peak, нМ	16,89 (11,66–21,68)	18,40 (12,29–20,26)
V, нМ/мин	1,48 (1,05–2,01)	1,59 (1,19–2,01)
LT, мин	11,33* (10,5–13,83)	8,93 (8,28–9,53)
TTP, мин	23,08* (21,17–26,25)	19,90 (18,68–20,97)

* — $p < 0,0001$.

Только у 3 % обследованных больных была снижена активность АТ. Уровень D-димера превышал нормальные значения (>500 нг/мл) у 62 % пациентов. При этом у 2 человек (7 %) отсутствовали какие-либо изменения в коагулограмме. Почти у трети больных имелись изменения только одного из показателей. Таким образом, у части пациентов увеличение концентрации фибриногена, активности факторов VIII и Виллебранда и уровня D-димера позволяли говорить о повышении гемостатического потенциала. Однако фактор Виллебранда и фибриноген относятся к группе белков острой фазы, и их увеличение может быть обусловлено интенсивностью воспалительного процесса, независимо от состояния гиперкоагуляции. Высокий уровень D-димера также нельзя рассматривать как специфичный маркер гиперкоагуляции. У большинства пациентов отсутствовало угнетение фибринолитической активности и снижение активности антитромбина.

Приведенные выше данные позволили заключить, что используемые в клинической практике методы оценки состояния гемостаза не позволяют в значительном проценте случаев сделать однозначный вывод о наличии или отсутствии гиперкоагуляции у пациентов с ОАСНК.

Учитывая то, что МЧ играют значимую роль в реакциях гемостаза и могут участвовать в повышении коагуляционного потенциала при атеросклеротическом поражении сосудистого русла, помимо стандартных методов исследования системы гемостаза, пациентам с ОАСНК проводилось определение параметров генерации тромбина, обусловленной МЧ плазмы крови (табл. 2; 3).

Как видно из данных табл. 2, при использовании в качестве триггера реактива «MP-Reagent» обнаружено значительное повышение как количественных показателей генерации тромбина (ETP и Peak), так и скорости генерации тромбина (V) в группе больных по сравнению со здоровыми лицами. Это говорит о том, что ТФ, локализованный на МЧ, вносит значимый вклад в увеличение генерации тромбина и, соответственно, усиление гемостатического потенциала у пациентов с ОАСНК. Учитывая, что показатель ETP оценивает общий потенциал тромбина, образованного в процессе реакции, и дает наиболее полное представление о наличии или отсутствии гиперкоагуляционных изменений в исследуемой плазме, мы определили, как часто у пациентов с

ОАСНК значение ETP превышает таковое у здоровых людей. Оказалось, что высокий уровень ETP (выше значения 75-го перцентилля в группе здоровых лиц) отмечался у 76 % пациентов независимо от нарушений, выявленных в коагулограмме. Так, у 2 пациентов, у которых все показатели коагулограммы соответствовали референтным значениям, были обнаружены повышенные значения ETP, в то же время у 5 больных с выраженными изменениями в коагулограмме уровень ETP не превышал нормальных значений. Таким образом, данная постановка ТГТ, учитывающая вклад ТФ МЧ, оказалась чувствительнее к выявлению гиперкоагуляции у пациентов с ОАСНК, чем определение отдельных показателей коагулограммы.

Чтобы выяснить зависимость изменения показателей тромбограмм от уровня коагуляционных факторов в исследуемой группе, мы провели корреляционный анализ полученных результатов. Оказалось, что значения ETP и Peak, увеличение которых говорит о гиперкоагуляционном потенциале исследуемой плазмы, не коррелировали ни с одним из показателей коагулограммы. Умеренная положительная корреляция была обнаружена между активностью фактора VIII и скоростью генерации тромбина ($r=0,397$). Отсутствие корреляции между основными количественными показателями ТГТ и уровнями исследованных факторов свертывания крови позволяет утверждать, что выявленное статистически значимое увеличение показателей ETP и Peak у пациентов с ОАСНК, по сравнению со здоровыми лицами, не зависит от высоких значений отдельных коагуляционных факторов, а обусловлено действием ТФ, экспрессированного на МЧ.

Применение в качестве триггера реактива «PRP-Reagent», позволяющего учитывать вклад прокоагулянтных фосфолипидов МЧ в генерацию тромбина, обнаружило лишь некоторое повышение показателя ETP в группе пациентов с ОАСНК. Однако достоверных различий между исследуемыми группами по показателям, характеризующим количество образованного тромбина (ETP и Peak) и скорость его генерации, не выявлено (табл. 3). При этом у больных ОАСНК имело место достоверное увеличение временных показателей (LT и TTP), что говорит об удлинении периода, необходимого для инициации процесса генерации тромбина, по сравнению со здоровыми лицами (табл. 3).

Анализ зависимости параметров ТГТ, полученных при использовании реактива «PRP-Reagent», от уровня факторов свертывания обнаружил отсутствие корреляции между ЕТР и всеми исследованными показателями коагулограммы.

Обсуждение результатов

Результаты, полученные при стандартном коагулологическом исследовании, показали, что оно не позволяет сделать однозначное заключение о наличии гиперкоагуляционного статуса у пациентов с ОАСНК. Достаточно частая встречаемость повышения уровня фибриногена и активности фактора Виллебранда может быть обусловлена наличием воспалительного процесса у данной категории больных.

Кроме того, оценка степени активации системы гемостаза у каждого конкретного больного сопряжена со значительными трудностями, так как у ряда пациентов отмечалось повышение только отдельных маркеров гиперкоагуляции на фоне нормальных значений антитромбина и отсутствия угнетения фибринолитической системы.

Исследование генерации тромбина, зависимой от МЧ плазмы крови, дало возможность более углубленного изучения состояния системы гемостаза у пациентов с ОАСНК. Использование модификации ТГТ, учитывающей вклад ТФ МЧ в коагуляционный процесс, позволило выявить повышение генерации тромбина у пациентов с ОАСНК по сравнению со здоровыми лицами. Это говорит о том, что у данных пациентов МЧ плазмы крови вносят значимый вклад в процесс образования тромбина за счет экспрессии ТФ на своей поверхности, участвуя, таким образом, как в повышении, так и в распространении гиперкоагуляционных изменений.

Прокоагулянтные фосфолипиды МЧ у этих больных не оказывают влияния на увеличение уровня и скорости тромбообразования. Обращает на себя внимание тот факт, что применение модификации ТГТ, позволяющей определять вклад отрицательно заряженных фосфолипидов в коагуляционный процесс, выявило у пациентов с ОАСНК увеличение

временных характеристик тромбограмм (LT, ТТР), что указывает на угнетение процесса инициации образования тромбина. Анализ литературных данных показал, что одним из основных факторов, влияющих на длительность LT, является ингибитор пути тканевого фактора (TFPI) [9].

Кроме того, известно, что атеросклеротически измененные сосуды экспрессируют повышенное количество TFPI [14]. В свою очередь, патогенетические основы развития атеросклеротического процесса predisполагают к образованию большого количества МЧ, в том числе эндотелиальных [8, 13], которые могут обладать выраженным антикоагулянтным потенциалом за счет экспрессии на своей поверхности как TFPI, так и тромбомодулина, и эндотелиального рецептора протеина С [15, 17].

Перечисленные особенности дают возможность предположить, что установленное нами увеличение временных показателей ТГТ у пациентов с ОАСНК является проявлением антикоагулянтной активности МЧ, экспрессирующих TFPI на своей поверхности.

Таким образом, у пациентов с ОАСНК отмечено повышение генерации тромбина, которое в значительной степени обусловлено ТФ, локализованным на поверхности МЧ. С другой стороны, установлено, что МЧ могут также участвовать и в ограничении генерации тромбина, о чем свидетельствует увеличение временных показателей ТГТ, а также отсутствие высоких значений ЕТР и Peak, несмотря на значительное повышение отдельных маркеров гиперкоагуляции.

Эти изменения могут быть обусловлены влиянием МЧ, обладающих антикоагулянтным потенциалом, возможно, за счет экспрессии TFPI на своей поверхности. Эту особенность можно рассматривать как защитный механизм, способствующий сохранению гемостатического баланса при хроническом стабильном течении заболевания. Исследование коагуляционного потенциала МЧ с помощью ТГТ может служить информативным тестом для индивидуальной оценки общего гемостатического потенциала у пациентов с атеросклерозом.

Литература

1. Аронов Д. М. Социальные аспекты атеросклероза и методы его лечения // РМЖ. 2000. Т. 8. № 7. С. 14–17.
2. Баркаган З. С., Момот А. П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. М.: Ньюдиамед, 2001. 285 с.
3. Зубаиров Д. М., Зубаирова Л. Д. Микровезикулы в крови. Функции и их роль в тромбообразовании. М.: Гозтар-Медиа, 2009. 176 с.
4. Зубаиров Д. М., Зубаирова Л. Д. Роль микровезикул в гемостазе новое направление в изучении патофизиологии гемостаза // Вестник гематол. 2005. Т. 1. № 2. С. 15–20.
5. Зубаирова Л. Д., Зубаиров Д. М. Роль лейкоцитов и лейкоцитарных микровезикул в атерогенезе и тромбообразовании // Клинико-лаборатор. консилуим. 2007. № 16. С. 10–19.
6. Bonderman D., Teml A., Jakowitsch J. et al. Coronary no-reflow is caused by shedding of active tissue factor from dissected atherosclerotic plaque // Blood. 2002. Vol. 99, № 8. P. 2794–2800.

7. Boulanger C. M., Amabile N., Tedgui A. Circulating microparticles: a potential prognostic marker for atherosclerotic vascular disease // Hypertension. 2006. Vol. 48. № 2. P. 180–186.
8. Crawley J., Lane D. A. The Haemostatic Role of Tissue Factor Pathway Inhibitor // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2008. Vol. 28. № 2. P. 233–242.
9. Dielis A. W., Castodoli E., Spronk H. M. R. et al. Coagulation factors and the protein C system as determinants of thrombin generation in a normal population // J. Thromb. Haemost. 2008. Vol. 6. № 1. P. 125–131.
10. Hemker H. C., Giestin P. et al. Calibrated automated thrombin generation measurement in clotting plasma // Path. Haem. Thromb. 2003. Vol. 33 (1). P. 4–15.
11. Growther M. A. Pathogenesis of atherosclerosis // Hematology. 2005. Vol. 1. P. 436–441.
12. Leroyer A. S., Tedgui A., Boulanger C. M. Role microparticles in atherothrombosis // Journal of Internal Medicine. 2008. Vol. 263. № 5. P. 528–537.

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

13. Maroney S. A., Haberichter S. L., Friese P. et al. Active tissue factor pathway inhibitor is expressed on the surface of coated platelets // *Blood*. 2007. Vol. 109. № 5. P.1931–1937.
14. Mitchell C. T., Kamineni A., Palmas et al. Tissue factor pathway inhibitor, vascular risk factors and subclinical atherosclerosis: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis // *Arteriosclerosis*. 2009. Vol. 207. № 1. P. 277–283.
15. Perez-Casal M., Downey C., Fukudome K. et al. Activated protein C induces the release of microparticle-associated endothelial protein C receptor // *Blood*. 2005. Vol. 105. № 4. P. 1515–1522.
16. Shantsila E., Kamphuisen P. W., Lip G. Y. H. Circulating microparticles in cardiovascular disease: implications for atherogenesis and atherothrombosis // *J. Thromb. Haemost.* 2010. Vol. 8. № 11. P. 2358–2368.
17. Steppich B. Tissue factor pathway inhibitor on circulating microparticles in acute myocardial infarction // *Thromb. and Haem.* 2005. № 1. Vol. 93. P. 35–39.